

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**SIÇAN BÖBREK PERFÜZYON BASINCININ
KONTROLÜNDE G-PROTEİNİ İLE İLİŞKİLİ ESTROJEN
RESEPTÖRÜNÜN (GPER) ROLÜ**

Uzm. Vet. Hek. A. Hakan KURT

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Kansu BÜYÜKAŞAR

MERSİN – 2012

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**SIÇAN BÖBREK PERFÜZYON BASINCININ
KONTROLÜNDE G-PROTEİNİ İLE İLİŞKİLİ ESTROJEN
RESEPTÖRÜNÜN (GPER) ROLÜ**

Uzm. Vet. Hek. A. Hakan KURT

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Kansu BÜYÜKAFŞAR

Bu tez ; Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri BAP-SBE TF (AHK) 2011-5 DR nolu proje olarak desteklenmiştir.

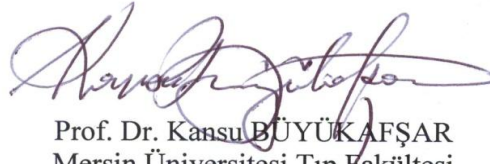
Tez No: 27...

MERSİN – 2012

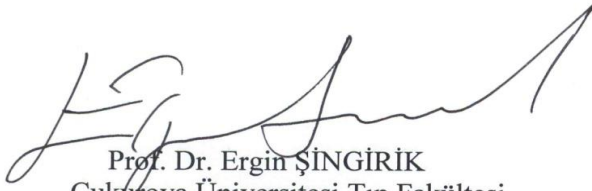
Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

“Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Doktora (Tezli) Program” çerçevesinde yürütülmüş olan “Sıçan böbrek perfüzyon basıncının kontrolünde G-proteini ile ilişkili estrogen reseptörünün (GPER) rolü” adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi 10/07/2012



Prof. Dr. Kansu BÜYÜKAFŞAR
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Jüri Başkanı



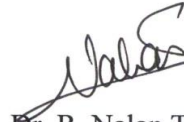
Prof. Dr. Ergin ŞİNGİRİK
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Jüri Üyesi



Yrd. Doç. Dr. İsmail ÜN
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Jüri Üyesi



Yrd. Doç. Dr. Tolgay ERGENOĞLU
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı
Jüri Üyesi



Yrd. Doç. Dr. R. Nalan TİFTİK
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Jüri Üyesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun 27.07.2012 tarih ve 2012/222 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Olca ÇÖMELEKOĞLU



TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince yardımlarını esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız ve danışman hocam Sn. Prof. Dr. Kansu BÜYÜKAFŞAR'a teşekkür ederim.

Tezime katkılarından dolayı Anabilim Dalımız öğretim üyesi Sn. Yrd. Doç. Dr. İsmail ÜN, Yrd. Doç. Dr. R. Nalan TİFTİK'e teşekkür ederim.

Her türlü desteğinden dolayı çalışma arkadaşlarım başta Arş. Gör. Sencer YURTSEVER, Arş. Gör. Ali BATUŞ, Uzm. Dr Mehtap PEKTAŞ ve diğer anabilim dallarındaki çalışma arkadaşlarım ile teknik ve idari personele teşekkürlerimi sunarım.

Her türlü fedakârlığı ve destekleri için eşim GÜL ve oğlum BERKE'ye teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Böbrekler.....	3
2.1.1 Böbreklerin Embriyonik Gelişimi.....	3
2.1.2 Böbreklerin Anatomisi.....	4
2.1.2.1 Böbreği Saran Örtüler.....	4
2.1.2.2 Böbreğin Yapısı.....	5
2.1.2.2.1 Böbreğin Arterleri.....	5
2.1.2.2.2 Böbreğin Venleri.....	6
2.1.2.2.3 Böbreğin Lenfatik Drenajı.....	6
2.1.2.2.4 Böbreğin Sinirleri.....	6
2.1.3 Böbreklerin Histolojisi.....	6
2.1.3.1 Nefronlar.....	7
2.1.3.1.1 Proksimal Kıvrımlı Tübüller.....	8
2.1.3.1.2 Henle Kıvrımı.....	9
2.1.3.1.3 Distal Kıvrımlı Tübül.....	9
2.1.3.1.4 Toplayıcı Tübüller ve Kanallar.....	10
2.1.3.1.5 Jukstaglomerüler Aparat.....	10
2.1.4 Böbreklerin Fizyolojisi.....	11
2.1.4.1 Böbrek-Vücut Sıvısı Basınç Kontrol Mekanizması.....	11
2.1.4.1.2 Sistemik Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi.....	12
2.1.4.1.2.1 Böbrekteki Renin Anjiyotensin Sistemi.....	16

2.1.4.2 Sinirsel Düzenleyici Mekanizmalar.....	17
2.1.4.3 Glomerüler Filtrasyon.....	18
2.1.4.4 Tübüler Fonksiyonlar.....	18
2.1.4.4.1 Na ⁺ Geri Emilimi.....	18
2.1.4.4.2 Glikoz ve Aminoasitlerin Geri Emilimi.....	19
2.1.4.4.3 Suyun Atılması.....	19
2.1.4.4.4 Ürenin atılımı.....	20
2.3 Estrojenler.....	21
2.3.1 Estrojenlerin Sentezi.....	22
2.3.2 Dağılım ve Metabolizma.....	23
2.3.3 Estrojen Reseptörleri.....	24
2.3.3.1 G protein Kenetli Reseptörler (GPCR).....	26
2.3.4 Estrojenin Etkileri.....	28
2.3.4.1 Estrojenlerin Seks Karakterleri ve Genital Kanal Üzerine Etkisi.....	28
2.3.4.2 Estrojenlerin Kemik ve Metabolizma Üzerine Etkileri.....	28
2.3.4.3 Estrojenin Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri.....	28
2.3.4.4 Estrojenin Santral Sinir Sistemi Üzerine Etkileri.....	30
2.3.4.5 Estrojenin Bilişsel İşlev Üzerine Etkileri.....	31
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	32
3.1 Deney Hayvanları.....	32
3.2 Cerrahi İşlem.....	32
3.3 Böbrek Perfüzyon Deneyleri.....	33
3.3.1 Deney Planı.....	33
3.4 Kullanılan Kimyasal Madde ve İlaçlar.....	36
3.5 Homojenizasyon ve Protein Miktar Tayini.....	37
3.6 Western-Blot Analizi.....	37
3.7 Bulguların Değerlendirilmesi.....	38
4. BULGULAR.....	39
4.1 Erkek Sıçanlarda Böbrek Medulla ve Korteks Dokusu ile Renal Arterde GPER1 Protein Ekspresyonu.....	39
4.2 Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağı Perfüzyon Basıncı Üzerine 17β-Estradiol'ün Etkisi.....	40

4.3 Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağı Perfüzyon Basıncı Üzerine ER α Agonisti PPT'nin Etkisi.....	41
4.4 Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağı Perfüzyon Basıncı Üzerine ER β Agonisti DPN'nin Etkisi	42
4.5 Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağı Perfüzyon Basıncı Üzerine GPER1 Agonisti G1'in Etkisi.....	43
4.6 Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağı Perfüzyon Basıncı Üzerine ER α ve ER β Antagonisti, GPER1 Agonisti ICI 182780'nin Etkisi.....	44
4.7 Erkek Sıçanlarda Böbrek Perfüzyon Basıncı Üzerine GPER1 Agonisti G1'in ve 17 β -Estradiol'ün Etkilerinin Karşılaştırılması.....	45
4.8 Endotelyum Uzaklaştırılmasının Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi.....	46
4.9 GPER1 Antagonisti G15'in Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi.....	47
4.10 ROCK inhibitörü Y-27632'in Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi.....	48
4.11 p42/44 MAPK İnhibitörü PD98059'in Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi.....	49
4.12 p38-MAPK inhibitörü SB 203580'in Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi.....	50
4.13 Tirozin Kinaz İnhibitörü Genistein'in Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi.....	51
4.14 PKC İnhibitörü GF109203X'in Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi.....	52
4.15 PI3K İnhibitörü LY294002'in Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi.....	53
4.16 JNK inhibitörü SP600125'in Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi.....	54
4.17 Kalsiyum Kanal Blokörü Nifedipin'in Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi.....	55
4.18 Erkek Sıçanlarda Böbrek Perfüzyon Basıncı Üzerine GPER1 Agonisti G1'in ve ICI 182780'nin Etkilerinin Karşılaştırılması.....	56

4.19 Dişi Sıçanların Böbrek Damar Yatağı Perfüzyon Basıncı Üzerine 17 β -Estradiol'ün Etkisi.....	57
4.20 Dişi Sıçanlarda Böbrek Perfüzyon Basıncı Üzerine GPER1 Agonisti G1'in ve 17 β -Estradiol'ün Etkilerinin Karşılaştırılması.....	58
4.21 Erkek ve Dişi Sıçanlarda Böbrek Perfüzyon Basıncı Üzerine GPER1 Agonisti G1'in Etkilerinin Karşılaştırılması.....	59
4.22 Erkek ve Dişi Sıçanlarda Böbrek Perfüzyon Basıncı Üzerine 17 β -Estradiol'ün Etkilerini Karşılaştırılması.....	60
5. TARTIşMA.....	61
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	64
7. KAYNAKLAR.....	66
ÖZGEÇMİş.....	74

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Ang II'nin oluşum aşamaları ve dolaşım ile böbrek işlevleri üzerindeki etkileri	14
Şekil 2.2 Estriol, estradiol ve estronun yapısı.....	21
Şekil 2.3 Estrojen Sentezi.....	23
Şekil 2.4 GPER1 selektif aganisti G1 ve GPER1 selektif antagonisti G15 kimyasal yapısı.....	27
Şekil 2.5 Estrojenin endotel hücresi üzerinde genomik ve non-genomik etkileri.....	29
Şekil 4.1 Erkek Sıçanlarda Böbrek Medulla ve Korteks Dokusu ile Renal Arterden elde edilen homojenatlarda GPER1 Protein Ekspresyonunun Western blot tekniği ile gösterilmesi.....	39
Şekil 4.2 Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağı Perfüzyon Basıncı Üzerine 17 β -Estradiol'ün Etkisi.....	40
Şekil 4.3 Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağı Perfüzyon Basıncı Üzerine ER α Agonisti PPT'nin Etkisi	41
Şekil 4.4 Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağı Perfüzyon Basıncı Üzerine ER β Agonisti DPN'nin Etkisi	42
Şekil 4.5 Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağı Perfüzyon Basıncı Üzerine GPER1 Agonisti G1'in Etkisi.....	43

Şekil 4.6 Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağı Perfüzyon Basıncı Üzerine ER α ve ER β Antagonisti, GPER1 Agonisti ICI 182780'nin Etkisi.....	44
Şekil 4.7 Erkek Sıçanlarda Böbrek Perfüzyon Basıncı Üzerine GPER1 Agonisti G1'in ve 17 β -Estradiol'ün Etkilerinin Karşılaştırılması.....	45
Şekil 4.8 Endotelyum Uzaklaştırılmasının Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi.....	46
Şekil 4.9 GPER1 Antagonisti G15'in Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi.....	47
Şekil 4.10 ROCK inhibitörü Y-27632'in Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi.....	48
Şekil 4.11 p42/44 MAPK İnhibitörü PD98059'in Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi	49
Şekil 4.12 p38-MAPK inhibitörü SB 203580'in Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi.....	50
Şekil 4.13 Tirozin Kinaz İnhibitörü Genistein'in Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi.....	51
Şekil 4.14 PKC İnhibitörü GF109203X'in Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi.....	52
Şekil 4.15 PI3K İnhibitörü LY294002'in Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi.....	53

Şekil 4.16 JNK inhibitörü SP600125'in Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi.....	54
Şekil 4.17 Kalsiyum Kanal Blokörü Nifedipin'in Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi.....	55
Şekil 4.18 Erkek Sıçanlarda Böbrek Perfüzyon Basıncı Üzerine GPER1 Agonisti G1'in ve ICI 182780'nin Etkilerinin Karşılaştırılması.....	56
Şekil 4.19 Dişi Sıçanların Böbrek Damar Yatağı Perfüzyon Basıncı Üzerine 17β-Estradiol'ün Etkisi.....	57
Şekil 4.20 Dişi Sıçanlarda Böbrek Perfüzyon Basıncı Üzerine GPER1 Agonisti G1'in ve 17β-Estradiol'ün Etkilerinin Karşılaştırılması.....	58
Şekil 4.21 Erkek ve Dişi Sıçanlarda Böbrek Perfüzyon Basıncı Üzerine GPER1 Agonisti G1'in Etkilerinin Karşılaştırılması.....	59
Şekil 4.22 Erkek ve Dişi Sıçanlarda Böbrek Perfüzyon Basıncı Üzerine 17β-Estradiol'ün Etkilerini Karşılaştırılması.....	60
Şekil 6.1 G1 ile Oluşan Böbrek Vazokonstriksiyonun Olası Mekanizması.....	65

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Ang II	- Anjiyotensin II
ADE	- Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
ADH	- Anti - Diüretik Hormon
AP1	- Aktivatör Protein 1
DDL	- Düşük Dansiteli Lipoprotein
HDL	- Yüksek Dansiteli Lipoprotein
DMSO	- Dimetilsülfoksit
E2	- 17 β -Estradiol
EDTA	- Etilendiamintetraasetikasit
EGTA	- Diaminoetoksietan tetraasetik Asit
ERE	- Estrojen Yanıt Elementi
ERα	- Estrojen Reseptörler Alfa
ERβ	- Estrojen Reseptörler Beta
eNOS	- Endotelyal Nitrik oksit Sentaz
GFH	- Glomerüler Filtrasyon Hızı
GPER	- G-proteini ile İlişkili Estrojen Reseptör
HERS	- Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study
KAH	- Koroner Arter Hastalığı
KB	- Kan Basıncı
MAPK	- Mitojenle Aktive Olan Protein Kinaz
NO	- Nitrik Oksit
O$_2^{\cdot}$	- Süper Oksit
RAS	- Renin Anjiyotensin Sistemi
ROCK	- Rho-kinaz
SDS-PAGE	- Sodium dodecyl sulfate-polycrilamide gel
SHBG	- Seks Hormonu Bağlayan Globulin
PHASE	- Papworth HT Atherosclerosis Study Enquiry
PKC	- Protein Kinaz C

ÖZET

Sıçan Böbrek Perfüzyon Basıncının Kontrolünde G-Proteini ile İlişkili Estrojen Reseptörünün (GPER) Rolü

G-proteini ile ilişkili estrojen reseptörü (GPER) agonisti, G1'in insan ve hayvan vasküler preparatlarında vazoaaktif olduğu tespit edilmiştir. Fakat izole sıçan böbrek perfüzyonunda G1'in etkisi henüz araştırılmamıştır. Bundan dolayı biz böbrek perfüzyon basıncı üzerine dişilik hormonu 17 β -estradiolün, selektif GPER1 agonisti G1'in, estrojen reseptör alfa (ER α) agonisti PPT'nin, estrojen reseptör beta (ER β) agonisti DPN'nin, klasik estrojen reseptör blokörü ve GPER1 agonisti ICI 182780'nin etkisini bunun yanında GPER1 ile ilişkili hücre sinyal yolağı üzerinde p42/44 mitojenle aktive olan protein kinaz (p42/44 MAPK), p-38 mitojenle aktive olan protein kinaz (p-38 MAPK), tirozin kinaz, Rho-kinaz (ROCK), protein kinaz C (PKC), fosfotidilinositol 3-kinaz (PI3K), Jun-kinaz ve kalsiyum kanallarının etkisini araştırdık. Ayrıca sıçan böbrek arter, medulla ve korteksinde GPER1 ekspresyonunu gösterdik.

İzole perfüze sıçan böbreğinde ana estrojenik hormon, 17 β -estradiol, GPER1 agonisti G1, klasik estrojen reseptörü blokörü ve GPER1 agonisti ICI 182780 perfüzyon basıncını yükseltirken, ER α agonisti PPT ve ER β agonisti DPN perfüzyon basıncını etkilemedi. G1'in oluşturduğu perfüzyon basıncı artışını Rho-kinaz inhibitörü (Y-27632), p42/44 MAPK inhibitörü (PD 98059), p38 MAPK inhibitörü (SB 203580), protein kinaz C inhibitörü (GF 109203X), tirozin kinaz inhibitörü (genistein) ve kalsiyum kanal blokörü (nifedipin) inhibe etti ancak jun-kinaz (SP 600125) ve PI3K inhibitörü (LY 294002) G1'in oluşturduğu perfüzyon artışını etkilemedi.

İzole sıçan böbrek perfüzyonunda G-proteini ile ilişkili estrojen reseptörü (GPER1) vasküler cevapları çeşitli sinyal yolakları aracılığıyla düzenleyebilir.

Anahtar kelimeler; Böbrek Perfüzyonu, 17 β -Estradiol, G1, GPER1

ABSTRACT

Role of G-protein coupled oestrogen receptor has modulated on the perfusion pressure of the isolated rat kidney

G-protein coupled estrogen receptor 1 (GPER1) agonist, G1 has been found vasoactive in a number of human and animal vascular preparations. However, its functional role has not been investigated in the isolated perfused rat kidney. The estrogenic hormone, 17 β -estradiol, an ER α agonist, PPT, an ER β agonist DPN, a GPER1 agonist, G1 as well as the classical estrogen receptor blocker but also a GPER agonist, ICI 182780 were evaluated on the perfusion pressure of the isolated rat kidney. Furthermore, several pharmacological tools were also tested to gain an insight into cellular signalling coupled with GPER, including Rho-kinase, tyrosine kinase, p42/44 MAPK, p38 MAPK, protein kinase C, JNK, PI3K and Ca²⁺ channels. Western blotting was also performed to demonstrate whether the rat kidney expresses GPER1.

17 β -estradiol, G1 and ICI 182780 but not PPT and DPN increased renal perfusion pressure. The GPER1 antagonist, G15 inhibited the effects of G1, 17 β -estradiol and ICI 182780. G1-induced vasoconstriction was significantly attenuated by the inhibitor of Rho-kinase (Y-27632), inhibitor of p42/44 MAPK (PD 98059), inhibitor of p38 MAPK (SB 203580), inhibitor of protein kinase C (GF 109203X), inhibitor of tyrosine kinase (genistein) as well as Ca²⁺ channel blocker (nifedipine) but not inhibitor of PI3K (SP 600125) and inhibitor of JNK (LY 294002). Western blotting indicated that the renal artery, medulla and cortex of the rat kidney expressed GPER1 receptor.

G protein-coupled estrogen receptor 1 (GPER1) could substantially modulate vascular responses through a variety of signalling pathways in the isolated perfused rat kidney.

Key Words: Perfused Kidney, 17 β -Estradiol, G1, GPER1

1.GİRİŞ

Erkeklerde hipertansiyon ve koroner arter hastalığı geçirme riski, premenapozal kadınlardan daha yüksektir; bununla birlikte postmenapozal dönemdeki bir kadın aynı yaştaki erkekle aynı derecede kardiyovasküler hastalık riski taşımaktadır (1,2). Koroner arter hastalıklarının, kadınlarda erkekler ile karşılaştırıldığında ortalama 10 yıl sonra geliştiği bildirilmiştir. Bu gecikmenin nedeni menopoz öncesinde özellikle estrogen olmak üzere kadın seks hormonlarının koruyucu etkisine bağlı olabilir (3). Menopozla beraber kadınlarda kardiyovasküler hastalıklarda artma ve endotel fonksiyonlarında bozulma olmaktadır. Bu artmış risk estrogen tedavisi ile önlenabilir gibi görünmektedir (4). Hayvanlarda yapılan deneysel çalışmalar ve insanlardaki gözlemsel çalışmalar, menopoz sonrası hormon tedavisinin kardiyovasküler koruyucu etkisini kuvvetle desteklemiştir. Ancak estrogenlerin bu kardiyovasküler koruyucu etkilerinin yanı sıra hormon replasman tedavi süresince zararlı kardiyovasküler etkilerinin de ortaya çıktığı bildirilmiştir (5). Örneğin Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study (HERS) çalışmasında ilk bir yıl içinde hormon replasman tedavisi alan grupta kontrol grubuna göre daha sık kardiyovasküler problemler gözlenmiştir (6). Papworth HT Atherosclerosis Study Enquiry (PHASE) çalışmasında 4. yılın sonunda estrogen tedavisi alan grupta kardiyovasküler komplikasyonlar % 23 oranında daha sık görülmüştür (7).

Estrogenlerin hücre içi Ca^{2+} düzeylerini, protein kinaz C ve Rho-kinaz sinyallerini düzenlemek (8), endotelial nitrik oksit üretimini artırmak (9), damar düz kas hücre proliferasyonunu inhibe etmek (10), vasküler inflamasyonu azaltmak (11) ve kolesterol düzeylerini modüle etmek (12,13) suretiyle kardiyovasküler sistemde koruyucu etki yaptığı bildirilmiştir. Diğer taraftan, testosteron ve estrogen artık bilinen erkeklik ve kadınlık hormonu olarak değerlendirilmemektedir. Testosteronun iyi bilinen etkileri dışında estrogenlerin de erkek üreme sisteminin gelişmesinde ve fonksiyonlarında esansiyel olduğu bildirilmektedir (14). Ayrıca, eksojen olarak erkeklere uygulanan estrogenlerin kardiyovasküler sistem üzerine ne tür etkiler yaptığı çok net değildir.

Yakın zamana kadar, estrogenlerin vasküler etkisine sadece klasik estrogen

reseptörlerinin (estrogen reseptör alfa ve beta) aracılık ettiği biliniyordu. Klasik estrogen reseptörlerin aktivasyonu sonrasında bu reseptörler çekirdeğe geçerek, genomik veya nongenomik yanıtları oluştururlar (15). Ancak estrogen reseptör alfa (ER α) ve estrogen reseptör beta (ER β) inhibisyonu veya bu reseptörlerin silinmesi (knock-out veya knock down) kardiyovasküler sistemde estrogen cevaplarını ortadan kaldırmamıştır (16). Estrogen, bilinen reseptörleri dışında farklı bir reseptör aracılığıyla kardiyovasküler etkisini oluşturabilir. Son birkaç yıl içinde yapılan çalışmalar G-proteini ile ilişkili estrogen reseptörünün (GPER) varlığını göstermiştir ve estrogen bu reseptör aracılığıyla hızlı sinyal yanıtları veya transkripsiyon olayları oluşturur (17).

G protein ilişkili estrogen reseptörü 1 (GPER1) ilk olarak 1996 yılında klonlanmış ve başlangıçta GPR30 adı verilmiştir (18). Haas ve arkadaşları, 2007 yılında insan arter ve ven düz kaslarında GPR30 ekspresyonunu göstermişlerdir (19). GPER1'in, plazma zarı ve endoplazmik retikulumda lokalize olduğu ve insan vücudunda beyin, karaciğer, kalp, akciğer, pankreas, plasenta, kan damarları, kemik, lenfoid doku, endometrium, over ve meme kanseri dokularında eksprese edildiği gösterilmiştir (20-25).

GPER1'in rolünü açıklamak için günümüzde selektif farmakolojik agonist olarak G1 sıklıkla kullanılmaktadır. G1'in mezenterik (26), karotid arter (27), koroner arter (28) ve aortada (29), vazodilatör etkisi gösterilmiştir. Ancak izole sıçan böbrek perfüzyonunda G1'in etkisi henüz araştırılmamıştır. Bundan dolayı böbrek perfüzyon basıncı üzerine dişilik hormonu olan 17 β -estradiolün, selektif GPER1 agonisti G1'in, estrogen reseptör alfa agonisti PPT'nin, estrogen reseptör beta agonisti DPN'nin, klasik estrogen reseptör blokörü ve aynı zamanda GPER1 agonisti ICI 182780'nin etkisini araştırdık. Bunu takiben, GPER1 ile indüklenen hücresel sinyalin detaylarını araştırmak için p44/42 mitojenle aktive olan protein kinaz (p44/42 MAPK) inhibitörü PD98059, p-38 MAPK inhibitörü SB203580, tirozin kinaz inhibitörü genistein, Rho-kinaz (ROCK) inhibitörü Y-27632, protein kinaz C (PKC) inhibitörü GF109203, fosfotidilinositol 3-kinaz (PI3K) inhibitörü LY 294002, Jun-kinaz inhibitörü SP 600125 ve kalsiyum kanal blokörü nifedipinin G1 ile oluşturulan vazoaktif cevaplar üzerine etkileri değerlendirildi. Ayrıca sıçan böbrek renal arter, medulla ve korteksinin GPER1 proteinini eksprese edip etmediği Western blot yöntemiyle araştırıldı.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 Böbrekler

2.1.1 Böbreklerin Embriyonik Gelişimi

Memeliler, embriyonik hayatta oluşum sırasına göre pronefroz, mezonefroz ve metanefroz olarak adlandırılan üç böbrek taslağı gelişimi gösterirler. İlk iki böbrek taslağı intrauterin dönemde kaybolur, üçüncüsü kalıcı böbrek haline gelir. Her üç böbrek taslağı da intermediate mezodermden (nefrotom) gelişir. İntermediate mezoderm, servikal bölgeden sakrale doğru organize olmuş nefronları oluşturur. Servikal nefronlar 4. haftada oluşur ve pronefroz adını alır. Memeli pronefrozu geçici ve fonksiyon göstermeyen bir böbrektir. Pronefroz 5. haftada tamamen geriler ve kaybolur. İkinci böbrek taslağı olan mezonefroz 9. ve 10. somit düzeyinde gelişir. Mezonefroz da geçicidir ama kalıcı böbrek oluşana kadar embriyonun boşaltıcı organı olarak çalışır. Bu dönemde epididim ve vas deferensin gelişimini sağlayacak mezonefrik kanallar (wolf kanalı) gelişir. Bu kanallar 28. günde kloakaya doğru ilerleyerek yapışırlar ve mesanenin arka duvarının parçası haline gelirler. Aynı dönemde mezonefrik veziküller ve tübüller oluşur. Veziküller uzar ve 'S' şeklinde tübülleri oluşturur. Tübülün lateral ucu mezengial kanal ile birleşip bir tomurcuk oluşturur, medial uç kese şeklini alıp glomerül kapillerinin etrafını saran böbrek cisimciğini oluşturur. Glomerül kapiller yumağı dorsal aortanın dallarından köken alır. Dördüncü aya kadar insan mezonefrozları tamamen ortadan kalkar. Mezonefrik kanalın distal ucunda oluşan üreter tomurcuğu ile metanefrik mezenkim blasteması arasındaki ilişkiden metanefroz gelişir. Üreter tomurcuğu metanefrik mezenkimi deler ve ikiye ayrılarak bölünür. Metanefrik mezenkim, üreter tomurcuğunu dallanması açısından, buna karşılık olarak da üreter tomurcuğu metanefrik mezenkimi yoğunlaşması ve epitelyal değişime uğraması yönünde etkiler. Üreter tomurcuğunun, metanefrik mezenkim içindeki uç kısmına ampulla denir ve nefronların gelişimini tetikleyici özelliği vardır. Nefron bu bölgedeki metanefrik mezenkimden farklılaşan vezikülden oluşur. Bu vezikül 'S' şeklinde tübüller yapıya dönüşür ve ileride

proksimal tübül, Henle kulbu, distal tübül ve Bowman kapsülüne farklılaşır. Üreter tomurcuğunun ilk birkaç bölünmesi sonucunda renal pelvis, majör ve minör kaliksler, uç kısımlarının bölünmeye devam etmesi ile toplayıcı kanalları oluşur ve 32. haftaya kadar bu sayı 3 milyona çıkar. Sonuç olarak; glomerül, proksimal tübül, Henle kıvrımı, distal tübülün oluşturduğu nefron metanefrik mezenkimden; toplayıcı kanallar, kaliksler, pelvis ve üreterin oluşturduğu toplayıcı sistem üreter tomurcuğundan gelişir (30-33).

2.1.2 Böbreklerin Anatomisi

Böbrekler kırmızımtırak-kahverengi renkte olup retroperitonda bulunur. Karın arka duvarının yukarı kısımlarında, onbirinci torakal vertebra ile üçüncü lumbal vertebra arasında, verteral kolonun iki yanında yerleşmiş olup, büyük ölçüde kostalar tarafından korunurlar. Sağ böbrek, sola göre karaciğerin sağ lobunun büyük olmasından dolayı biraz daha aşağıda bulunmaktadır. Her iki böbreğin medial konkav kenarında vertikal bir yarık bulunur. Bu yarığı böbrek dokusunun kalın dudakları çevreler ve buraya böbreğin hilusa denilir. Hilustan nden arkaya doğru sırasıyla renal ven, renal arterin iki dalı, üreter ve renal arterin üçüncü dalı geçer. Ayrıca lenf damarları ve sempatik sinir lifleri de buradan geçer (34).

2.1.2.1 Böbreği Saran rtler

Fibröz kapsül: Böbreği çepeçevre saran, böbreğin üzerindeki ilk örtüdür. Bu kapsül hilusa geldiği zaman hem böbrek sapındaki damarların adventisya tabakası ile devam eder, hem de hilustan içeri sokularak sinus renalisin i yüzünü rtter ve sinus renalise sıkıca tutunur. Fibröz kapsül böbrekten kolayca soyulabilir. Genişleme kabiliyeti yoktur.

Adipoz kapsül: Fibröz kapsülün üzerindeki yağ dokusu tabakasıdır. Böbreğin arka yüzünde daha kalındır. Hilustan içeri girerek sinus renalisteki oluşumların arasını doldurur.

Renal fasya: Adipoz kapsülün üzerinde bağ dokusundan oluşan, böbreküstü bezlerini de saran tabakadır. Lateralde transvers fasya ile devamlılık gösterir.

Korpus Adiposum Pararenale: Renal fasyanın dış tarafında yer alır bol miktarda yağ dokusundan oluşur. Bu örtüler böbreği korur ve karın arka duvarında böbreklerin uygun bir pozisyonda durmalarını sağlar (34,35).

2.1.2.2 Böbreğin Yapısı

Böbreğin dıştaki koyu kahverengi kısmına korteks renalis, içteki açık kahverengi kısmına ise medulla renalis adı verilir. Medulla renalis yaklaşık bir düzine kadar renal piramit içerir. Renal piramitlerin her birinin ‘basis pyramidis’ adı verilen parçası kortekse doğru yerleşir. Renal piramitlerin apeks kısmı renal papilla adını alır ve medialde bulunur. Renal sinüs, hilusun içerisinde yer alan boşluğa verilen addır ve üreterin genişlemiş olan üst ucu ve renal pelvis burada bulunur. Renal pelvis, iki ya da üç majör kalikse ayrılır. Bunların her biri iki veya üç minör kalikse ayrılır. Her minör kaliks, renal piramidin uç kısımlarındaki renal papilla ile ilişki halindedir (34,35).

2.1.2.2.1 Böbreğin Arterleri

Arteria renalis, pars abdominalis aortadan 2. lumbal vertebra düzeyinde ayrılır. Arteria renalislerin her biri, genelde 5 adet a. segmentalise ayrılır. Arteria segmentalislerin 4 tanesi renal pelvisin önünde ve bir tanesi de bunun arkasında olmak üzere hilumdan böbreğe girer. Arteria segmentalisten, renal piramitlerin her birine bir tane gitmek üzere a. Lobarisler ayrılır. Böbrek dokusuna girmeden önce, a. lobaris iki veya üç a. interlobaris dalına ayrılır. Arteria interlobarisler, renal piramitlerin her iki yanında seyrederek korteks renalise doğru gider. Korteks renalis ile medulla renalisin birleşme yerlerinde, a. interlobarisler a. arcuata dallarını verir ve a. arcuatalar ‘basis pyramidis’te bir arkus oluşturur. A. arcuatadan a. interlobularisler ayrılır. A. interlobularisin dalları ise afferent glomerüler arteriyolları oluşturur (34,35).

2.1.2.2.2 Böbreğin Venleri

Böbreğin venlerinin başlangıcı böbrek kapsülünün altında bulunan 5–6 kollu yıldız şeklinde ve ‘venulae stellatae’ adı verilen küçük venlerden başlar. Bu venler birleşerek vena interlobularisleri meydana getirir. Vena interlobularisler korteks renalisten geçerek medulla renaliste ilerleyen venulae rectae medullarisler ile birleşerek v. renalisleri meydana getirir. Vena renalis, arteria renalisin önünde seyrederek hilumda böbrekten çıkar. Vena renalisler, v. cava inferiora direne olur. Sağ vena renalis soldakinden daha kısadır. Sol v. renalis, abdominal aortun önünden geçerek v. cava inferiora dökülür. Vena testicularis sinistra sol v. renalisine dökülür. A. mezenterika superior ise sol v. renalisin önünden geçerek onu çaprazlar (34,35).

2.1.2.2.3 Böbreğin Lenfatik Drenajı

Lenf damarları a. renalisini takip eder ve a. renalisin başlangıcı etrafındaki lenf nodlarına açılır. Böbreğin yüzeysel lenf damarları, adipos kapsüle ait lenf damarları ile de birleşerek komşu lenf ganglionlarına dökülür (34,35).

2.1.2.2.4 Böbreğin Sinirleri

Çölyak pleksusundan, lumbal sempatik trunkustan ve sakral parasempatik merkezden gelen lifler birleşerek renal pleksusunu meydana getirirler. Bu pleksusa ait olan renal ganglion, a. renalisin abdominal aortadan çıktığı yerin hemen üstünde bulunur. Renal pleksusdan çıkan sinir dalları a. renalisini takip ederek böbreğin parankiminin içine girer ve nefronlara kadar uzanır (34,35).

2.1.3 Böbreklerin Histolojisi

Böbrek dışta korteks ve içte medulla olmak üzere iki bölüme ayrılır. İnsanda

renal medulla 10-18 adet konik veya piramidal şekilli yapıdan oluşur. Bunlar medüller piramidler adını alır. Her bir medüller piramidin tabanından kortekse uzanan birbirine paralel tübül demetleri, medüller ışınlar çıkar. Her medüller ışın böbreğin fonksiyon gören birimleri olan birkaç nefron grubunun düz kısımları ile birlikte bir ya da daha çok sayıda toplayıcı kanaldan oluşur. Her medüller piramidin çevresini saran kortikal doku renal lob adını alır ve her medüller ışın konik şekilli renal lobülün merkezini oluşturur. Kortikal doku aynı zamanda Bertin sütunları olarak bilinen yapıları oluşturacak şekilde medüller piramidlerin arasında da bulunmaktadır (36,37).

2.1.3.1 Nefronlar

Her bir böbrek 1-4 milyon nefron içerir. Her nefron; renal cisimcik, proksimal kıvrımlı tübül, Henle kıvrımının ince ve kalın uzantıları ve distal kıvrımlı tübülden oluşur. Embriyonel kökeni nefrondan farklı olan toplayıcı tübüller ve kanallar nefronlarda üretilen idrarı toplayarak böbrek pelvisine iletirler. Her renal cisimciğin çapı yaklaşık 200 µm'dir ve kapiller bir yumak olan glomerülden oluşmuştur. Bu yumak Bowman kapsülü olarak adlandırılan iki tabakalı epitelyal bir kapsülle sarılmış durumdadır. Kapsülün iç tabakası olan viseral tabaka glomerülün kapillerini örter. Dış tabaka renal cisimciğin en dıştaki sınırını oluşturur ve Bowman kapsülünün pariyetal tabakası adını alır. Bowman kapsülünün iki tabakası arasında, kapiller duvarından ve viseral tabakadan süzülen sıvının toplandığı idrar boşluğu bulunur. Her renal cisimcikte, afferent arteriyollerin ve efferent arteriyollerin çıktığı damar kutbu, proksimal kıvrımlı tübüllerin başladığı noktada ise bir idrar kutbu bulunur. Afferent arteriyol renal cisimciğe girdikten sonra genellikle her biri kapillere dönüşen iki ile beş adet primer dala ayrılır. Bowman kapsülünün pariyetal tabakası ince bir retiküler lif tabakası ve bazal lamina ile desteklenen tek katlı yassı epitelden oluşur. İdrar kutbundaki epitel, proksimal tübül için karakteristik olan tek katlı prizmatik epitele değişir. Viseral tabakadaki hücrelerin gövdelerinden birkaç primer uzantı şekillenir ve bu hücrelere podosit denir. Her bir primer uzantı pedisel denen çok sayıda sekonder uzantı oluşturur. Podositlerin sitoplazması çok sayıda serbest ribozom, az sayıda kaba endoplazma retikulumu sistemasi, seyrek mitokondriler belirgin bir golgi kompleksi içerir. Podositlerin

sitoplazmalarında bunların kasılabilmesini sağlayan aktin mikroflament demetleri vardır. Glomerül kapillerindeki endotel hücreleriyle, bunların dış yüzeyini örten podositler arasında kalın bir bazal membran bulunur. Bu tabakanın kapillerdeki kanla idrar boşluğunu birbirinden ayıran bir filtrasyon engeli oluşturduğu düşünülmektedir. Bu bazal membran kapillerin ve podositin oluşturduğu bazal laminaların kaynaşmasından meydana gelmiştir. Elektron mikroskop yardımıyla ortada elektron yoğun bir tabaka (lamina densa) ve her iki yanda daha fazla elektron geçirgen bir tabaka (lamina rara) fark etmek mümkündür. Lamina raralar bunları hücrelere bağlamaya yarayabilecek olan fibronektin içerir. Lamina densa ise negatif yüklü bir proteoglikan olan heparan sülfat içeren bir matriks içinde tip 4 kollajen ve lamininin oluşturduğu ağ şeklinde bir yapıdır. Yani glomerül bazal laminası, lamina densanın fiziksel bir filtre olarak iş gördüğü, lamina raradaki anyonik bölgelerin ise elektriksel bir engel oluşturduğu seçici bir makromoleküler filtredir. Molekül ağırlığı albuminin molekül ağırlığından daha fazla olan negatif yüklü proteinler membrandan eser miktarda geçmektedir. Glomerül kapillerinin endotel hücreleri ince bir sitoplazmaya sahiptir. Organellerin çoğu, çekirdek çevresindedir. Glomerülün pencere kapillerinin, pencereleri daha büyüktür ve kapiller aralığı birbirine tutturun bir diyafram yoktur. Glomerül kapillerinde, endotel hücreleri ve podositlerin yanı sıra kapiller duvarına tutunan mezengiyal hücreler yer alır. Bu hücreler kendilerini saran ve kapiller duvarına destek olan amorf matriksi sentezler. Bu hücrelerin aynı zamanda makrofaj gibi davranarak süzme işlemi sırasında bazal laminaya biriken partiküllü maddeleri temizlediği düşünülmektedir (37,38).

2.1.3.1.1 Proksimal Kıvrımlı Tübüller

Renal cisimciğin idrar kutbunda, Bowman kapsülünün pariyetal yaprağının tek katlı yassı epiteli proksimal kıvrımlı tübüllerde prizmatik epitelyum şeklinde devam eder. Proksimal kıvrımlı tübüller tek katlı kübik ya da prizmatik epitelle örtülüdür. Hücre apeksinde fırçamsı kenarı oluşturan 1µm uzunluğunda çok sayıda mikrovillus bulunur. Bu hücrelerin apikal sitoplazmalarında, mikrovillusların tabanı arasında çok sayıda kanalikül bulunur; bu kanaliküller proksimal tübül hücrelerinin makromolekülleri emme yeteneğini sağlar. Apikal membranın içe doğru yaptığı girintiler pinositik vezikülleri

oluşturur. Bu veziküller içerisinde glomerül süzgecinden geçen makromoleküller bulunur. Bu veziküller lizozom ile kaynaşır ve oluşan monomerler dolaşıma geri döner. Bu hücrelerin bazal bölümlerinde yoğun membran katlanmaları ve komşu hücreler arasında lateral kenetlenmeler bulunmaktadır. Sodyum iyonlarının aktif olarak hücre dışına atılmasından sorumlu olan Na^+ / K^+ ATPaz (sodyum pompası) bu bazolateral membranlarda bulunur. Mitokondriler hücrenin tabanında yoğunlaşmıştır ve hücrelerin uzun eksenine paralel dizilim göstermektedir. Bu şekilde dizilim, aktif iyon taşınmasında rol üstlenen hücrelere özgüdür (38).

2.1.3.1.2 Henle Kıvrımı

Henle kıvrımı, proksimal kıvrımlı tübüllere yapıca çok benzeyen bir kalın inen kol; bir ince inen kol; bir çıkan ince kol ve yapıca distal kıvrımlı tübüllerle aynı olan bir çıkan kalın koldan oluşan U-şeklinde yapıdır. Bütün nefronların yaklaşık yedide biri kortikomedüller sınırın yakınında bulunur, bu yüzden jukstamedüller nefronlar adını alırlar. Diğer nefronlara ise kortikal nefronlar adı verilir. Bütün nefronlar süzme, emilim ve salgılama işlemlerinde rol alırlar. Ancak jukstamedüller nefronların medüller interstisyumdaki hipertonic gradyanı sağlama konusunda özel bir önemi vardır. Jukstamedüller nefronların Henle kıvrımı çok uzundur (37).

2.1.3.1.3 Distal Tübül

Henle kıvrımı çıkan kalın kolu kortekse girdiğinde histolojik yapısını korur ancak büklümleşerek nefronun son kısmı olan distal kıvrımlı tübülleri oluşturur. Bu tübül tek katlı kübik epitelle döşelidir. Histolojik kesitlerde her ikisi de kortekste bulunan proksimal ve distal tübüller arasındaki ayırım belli özelliklere bakılarak yapılabilir. Proksimal tübüllerdeki hücreler distal tübülde bulunan hücrelerden daha büyüktür ve fırçamsı kenarları vardır. Distal tübüllerin lümenleri daha geniştir. Proksimal tübüllere özgü olan apikal kanalikül ve veziküller, distal tübül hücrelerinde görülmez. Distal kıvrımlı tübül hücrelerinin bazal membranlardaki yoğun invajinasyonlar ve bunlarla

ilişkili mitokondriler, bu hücrelerin iyon taşınmasında rol oynadıklarını göstermektedir. Distal kıvrımlı tübüller kortekste izledikleri yol boyunca kendi nefronlarına ait renal cisimciğin damar kutbuna değeri. Bu değme noktasında afferent arteriyol ve distal tübül modifiye olur. Distal kıvrımlı tübül hücreleri bu jukstaglomerüler bölgede prizmatik hale dönüşürken çekirdekleride bir araya toplanır. Mikroskopik preparatlarda nükleusların yakın yerleşimi yüzünden daha koyu renkli görünen bu distal tübül segmenti makula densa olarak adlandırılır. Deneysel bulgular, makula densa hücrelerinin tübüler sıvıdaki klorür iyon içeriğine duyarlı olduğunu ve glomerüldeki afferent arteriyolde kasılmaya yol açan moleküler sinyaller oluşturduğunu düşündürmektedir. Bu mekanizma ile makula densa glomerüler filtrasyon hızını düzenleyebilir (37).

2.1.3.1.4 Toplayıcı Tübüller ve Kanallar

Distal kıvrımlı tübüllerden geçen idrar, birbirlerine bağlanarak daha büyük, düz toplayıcı kanalları oluşturan toplayıcı tübüllere boşalır. Bu kanallar Bellini papiller kanalları adını alır ve piramitlerin uçlarına doğru giderek genişler. Küçük toplayıcı tübüller kübik epitelle döşelidir ve çapı ortalama 40 µm'dir Bu tübüller medüllanın derinliklerine doğru indikçe hücrelerin boyu uzar ve prizmatik olur. Piramidin ucuna yakın bölümlerde toplayıcı kanalın çapı 200 µm'e ulaşır. Hücrelerin bazal membranı hemen hemen hiç invajinasyon göstermez. Kortekste bulunan toplayıcı kanallar, her medüller ışına boşalan birkaç küçük toplayıcı tübül aracılığı ile birbirine bağlanır. Medüllada gerçekleştirilen idrar yoğunlaştırma işleminde en önemli rolü toplayıcı kanallar yapar (37).

2.3.1.5 Jukstaglomerüler Aparat

Renal cisimciğin hemen bitişiğinde afferent arteriyolün tunika medyasında modifiye düz kas hücreleri bulunmaktadır. Bu hücrelere jukstaglomerüler hücreler denilmektedir. Jukstaglomerüler hücrelerin salgısı kan basıncının sağlanmasında rol oynamaktadır. Distal kıvrımlı tübüllerde bulunan makula densa, jukstaglomerüler

hücrelerin yer aldığı afferent arteriyol kısmına çok yakındır; arteriyolün bu bölümü, makula densa ile birlikte jukstaglomerüler aparatı oluşturur. Elektron mikroskopla incelenen jukstaglomerüler hücreler, başta bol miktarda endoplazmik retikulumu, iyi gelişmiş golgi kompleksi ve çapları yaklaşık 10-40 nm olan salgı granülleri olmak üzere protein salgılayan hücrelere özgü özellikler sergilerler. Jukstaglomerüler hücreler, anjiotensinojen denilen plazma proteini anjiotensin-1 olarak adlandırılan inaktif decapeptide dönüştürecek olan renin hormonunu üretirler (37).

2.1.4 Böbrek Fizyolojisi

Böbreklerde plazma benzeri bir sıvı glomerüler kapiller yataktan böbrek tübülleri içine filtre edilir (glomerüler filtrasyon). Bu glomerüler filtrat tübüller boyunca hareket ederken hacmi ve bileşimi, tübüller geri emilim (tübüller sıvıdan su ve solütlerin uzaklaştırılması) ve tübüller sekresyon (tübüller sıvı içine solüt alınması) nedeni ile idrarı oluşturmak üzere değişikliğe uğrar ve renal pelvise ulaşır. İdrar bileşimi değiştirilebilir ve birçok hemostatik düzenleme mekanizmaları ile idrar içerisindeki su ve solütlerin miktarı ayarlanarak ekstrasellüler sıvı bileşimindeki değişiklikler önlenir veya azaltılabilir. Renal pelvisten mesaneye ulaşan idrar, işeme ile dışarıya atılır. Kininleri yapan, renin, eritropoetin salgılayan ve 1,25 dihidroksikolekalsiferol oluşturan böbrekler aynı zamanda bir endokrin organdır (39,40).

2.1.4.1 Böbrek-Vücut Sıvısı Basınç Kontrol Mekanizması

Böbrekler, arteriyel basıncın uzun süreli düzenlenmesinde diürezi ve natriürezi mekanizmalarıyla sodyum ve su dengesini sağlama yeteneğiyle kritik role sahiptir. Böbrekler, vücut sıvı hacmini değiştirerek arteriyel basıncı düzenler, bu düzenleme basınç natriürezi denilen basıncın sodyum atılımı üzerindeki etkisiyle gerçekleştirilir. Sodyum atılımının renal perfüzyon basıncıyla doğru orantılı olduğu, kan basıncı ve perfüzyon basıncı artışının atılan sodyum miktarında artışlara sebep olduğu gösterilmiştir (41). Artan arteriyel basınca bağlı olarak tuz atılımının artmasını sağlayan bu kontrol

sistemini etkileyen birçok faktör olmasına rağmen en önemlisi anjiyotensindir. Anjiyotensin II veya renal sempatik sinir sistemi aktivitesi arttığında, basınç-sodyum atılımı eğrisinin sağa kaydığı gösterilmiştir (41). Renal adrenerjik aktivitedeki kronik değişiklikler basınç natriürezini etkileyerek arteriyel basınçta kalıcı değişimlere neden olur. Arteriyel basınç ve vücut sıvı hacminin düzenlenmesinde renal sinirlerin kritik rol oynadığı düşünülmektedir (42).

2.1.4.1.2 Sistemik Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi

Renin anjiyotensin sistemi (RAS), kardiyovasküler homeostazda, sıvı elektrolit dengesinde ve sempatik sinir sistemi aktivasyonunda rolü olan bir sistemdir. RAS'ın biyolojik etkinliğinden birinci derecede sorumlu olan hormon oldukça aktif bir oktapeptid olan Anjiyotensin II'dir.

Plazma renin seviyesi, vücudun tüm renin anjiyotensin sistemi aktivitesini belirleyen temel etkidir. Böbrekler dolaşımdaki reninin majör kaynağıdır. Afferent arteriyol basıncının azalması, makula densadaki azalmış sodyum miktarı ve sempatik nöronların aktivasyonu ile renin salınımı uyarılmaktadır. Dolaşımdaki RAS aktivitesi, başlıca, kan basıncı, su ve tuz alımına bağlı olarak düzenlenmektedir. Dolaşımda oluşan Anjiyotensin II bütün vücuda taşınmakta ve fizyolojik cevapların oluşumunu tetiklemektedir (43).

Böbreklerden renin salınımının düzenlenmesi karmaşık bir olaydır. Böbrekte bölgesel renin salınımının farklılığı, tubuloglomeruler geri bildirim mekanizmasının duyarlılığını belirlemeye yardımcı olur ve sonuçta renal kan akımının otoregülasyonu için ayar noktası oluşturur (43). Renin salınımını düzenleyen kontrol mekanizmalarından biri, böbreklerdeki baroreseptör mekanizması olup arteriyel basınç jukstaglomerüler hücre düzeyinde azaldığı zaman renin salınımı uyarılırken, basınç arttığı zaman ise renin salınımı baskılanmaktadır. İkinci bir mekanizma ise makula densa olup, renin salınımının hızı bu bölgedeki sodyum ve klor taşıma hızı ile ters orantılıdır. Taşıma hızı sadece makula densadaki hücresel mekanizmalara değil aynı zamanda buraya ulaşan

elektrolit derişimine de bağlıdır. Makula densaya ulaşan sodyum ve klor miktarının azalması renin salınımını artırır. Prostaglandinler, özellikle prostasiklin, jukstaglomerüler hücrelere doğrudan etkiyle renin salınımını uyarır. Anjiyotensin II ise jukstaglomerüler hücrelere direkt etkiyle renin salınımını baskılamaktadır. Anti-Diüretik Hormon (ADH)'ın renin salınımını inhibe ettiği bilinmektedir.

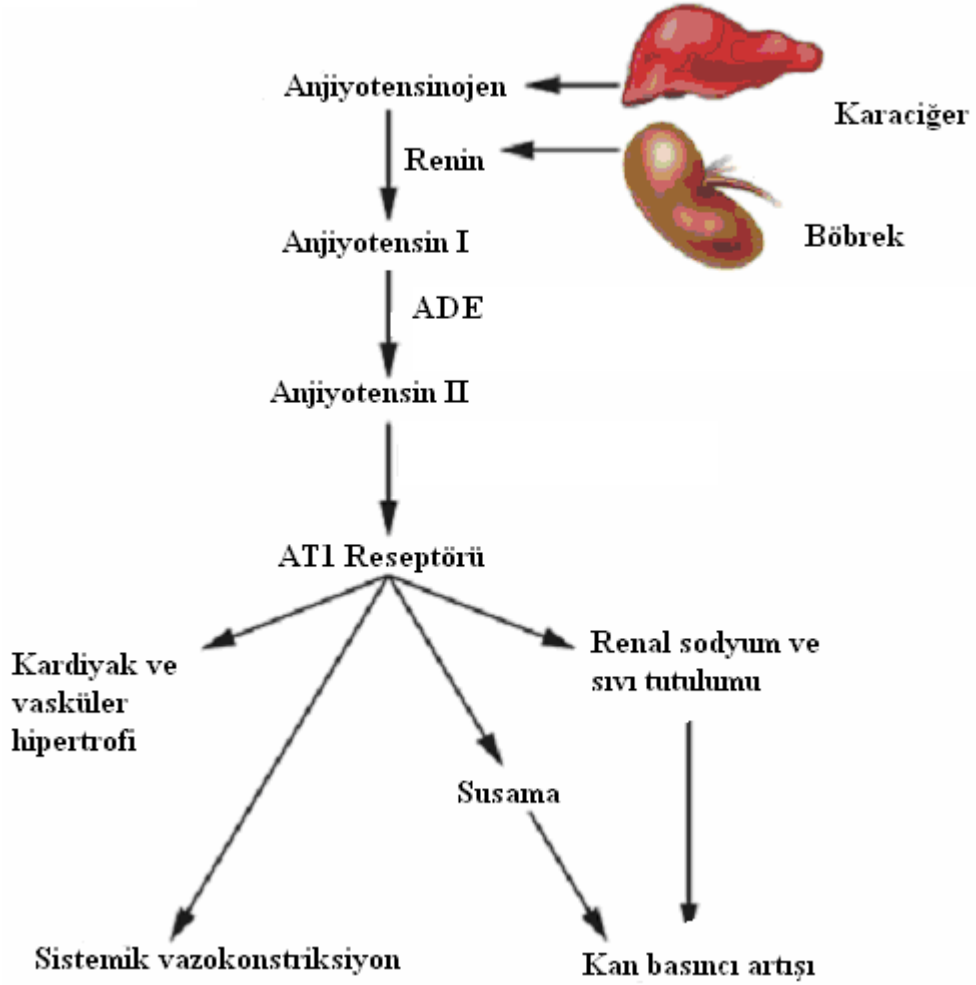
Sempatik etkinliğin artışı, dolaşımdaki katekolamin seviyesini ve postgangliyonik renal sempatik sinirlerden noradrenalin seviyesini artırma yoluyla renin salınımını uyarmaktadır. Renal sinir terminallerinden salınan noradrenalinin, jukstaglomerüler hücrelerdeki adrenerjik β_1 reseptörlerini uyararak renin sekresyonuna yol açtığı belirtilmektedir (44,45). Bu sekresyonun siklik adenozinmonofosfat aracılığıyla gerçekleştiği bildirilmektedir (44).

Sistemik dolaşımı ilgilendiren birçok hastalığın renin seviyesini etkilediği bilinmektedir. Hipotansiyon, kanama, dehidratasyon gibi durumlarda renin salınımı artar. Kalp yetmezliği, siroz, renal arter veya aort darlığının da renin salınımını artırdığı bilinmektedir (46,47).

Anjiotensin dönüştürü enzim (ADE) inhibitörleri, Anjiotensin I'in Anjiyotensin II'e dönüşümünü engelleyerek Anjiyotensin II miktarını azaltmak yoluyla renin salınımını baskımlarken Anjiyotensin II'in reseptörüne bağlanmasını engelleyen reseptör blokörleri de renin salınımını azaltmaktadır.

Anjiyotensin II'nin dolaşım sistemi ve böbrek işlevleri üzerinde gösterdiği etkiler Şekil 2.1'de özetlenmiştir.

Sistemik Renin Anjiotensin Sistemi (RAS)



Şekil 2.1 Anjiyotensin II'nin oluşum aşamaları ve dolaşım ile böbrek işlevleri üzerindeki etkileri (48).

Anjiyotensin II'nin böbrek içi etkileri renal damarlarda vazokonstriksiyon, tübül sodyum reabsorpsiyonu, tubuloglomerüler geri bildirim ve basınç natriürezinin düzenlenmesidir. Anjiyotensin II'nin sodyum geri emilimi üzerindeki etkisi, renal damarlar ve tübüllerdeki sinerjistik etkisiyle güçlendirilir. Anjiyotensin II, afferent ve efferent arteriyolleri kasıp mezengiyal hücrelerin konstriksiyonunu sağlayarak renal kan akımını, glomerüler filtrasyon hızını ve filtre edilen sodyum yükünü azaltmaktadır. Buna ek olarak Anjiyotensin II, henle kulpunda pasif sodyum geri emilimini artırmakta ve renal meduller kan akımını azaltmaktadır. Anjiyotensin II, proksimal tübülde Na^+ / H^+ değiştiricisini, bazolateral membran $\text{Na}^+ / \text{HCO}_3^-$ birlikte taşıyıcısını ve Na^+ / K^+ ATP'az

aktivitesini direkt olarak artırıcı etkilere sahiptir. Distal nefronda Na^+ / H^+ değiştiricisinin aktivitesini ve epitelyal sodyum kanal aktivitesini dzenler. Anjiyotensin II'nin bu renal vasküler ve túbüler aktivitesinin net etkisi, sodyum atılımını azaltmaktır. Sonuç olarak Anjiyotensin II, direkt etkiyle böbreklerden su ve tuz geri emilimine yol açar.

Anjiyotensin II hem afferent hem de efferent arteriyollerin kasılabilirliğini artırmasına rağmen efferent arteriyol üzerindeki kasıcı etkisi daha fazladır. Arteriyollerin kasılmasıyla sonuçta glomerüllerden túbüllere daha az miktarda sıvı filtre edilir. Peritúbüler kapillerde kan akımını yavaşlatarak túbüllerden hızlı ozmotik sıvı geri emilimine neden olarak idrar miktarını azaltır (46).

Anjiyotensin II, böbreküstü bezlerinden aldosteron salgılanmasına neden olarak da böbrek túbüllerinden su ve tuz tutulumuna neden olur. Arteriyel basınçta ani bir değişiklik sonrası birkaç saat içerisinde aldosteronun dolaşımdaki seviyeleri değişmekte ve basınç kontrolünde önemli rol oynamaktadır (42).

Anjiyotensin II, AT_1 reseptörünü uyararak sistemik kan basıncı ve periferik vasküler tonusta artışla vazokonstriksiyona neden olur. Anjiyotensin II'nin vazokonstriksiyon yapıcı etkisi arteriyollerde venlerdekinden daha fazla miktarda görülür. Arteriyollerin kasılması periferik direnci arttırarak arteriyel basıncı artırır, venlerde meydana gelen orta dereceli kasılma ise kalbe venöz dönüşü artırarak kalbin yükselen basınca karşı pompalama gücünü arttırır (42).

Yukarıdaki etkiler yanında, Anjiyotensin II AT_1 reseptörünün uyarılmasından sonra oluşan süperoksit, nitrik oksit (NO) oluşumunu inaktive ederek arterlerin dilatasyon kapasitesini azaltmaktadır. Endotelyal hücrelerde Anjiyotensin II AT_1 reseptörünün uyarılmasıyla reaktif oksijen türleri, izoprostanlar, endotelin gibi maddelerin üretimiyle de Anjiyotensin II'nin vazokonstriktif etkisi potansiyelize edilmektedir. Renin anjiyotensin sisteminin aktivasyonu ile küçük arterlerde media tabakası genişliğinin lümen çapına oranının artmakta olduğu ve bunun kan basıncı üzerine olan etkisinden bağımsız olarak geliştiği bildirilmektedir (49).

Anjiyotensin II, kardiyomiyositlerde tip1 reseptörleri üzerinden pozitif inotropik ve kronotropik etkiye sahiptir. Miyosit ve fibroblastlarda, fibroblast büyüme faktörü, transforme edici büyüme faktörü beta ve tromboplast kaynaklı büyüme faktörü aracılığıyla, büyüme ve proliferasyon yaptığı bildirilmektedir (50). Anjiyotensin II'nin uzun süreli trofik etkisinin kardiyak hipertrofiye ve yeniden şekillendirmeye neden olduğu, bunun da hipertansiyon patofizyolojisinde rol oynadığı bildirilmektedir (48). Anjiyotensin II'nin uzun süreli etkilerinin deney hayvanlarında kalp ve böbreklerde hasara neden olacak ölçüde olabileceği ileri sürülmektedir.

Anjiyotensin II'nin kalp üzerindeki hipertrofik etkileri sodyum alım miktarına bağlı olarak değişebilmektedir. Kardiyak hipertrofi üzerindeki etki açısından, Anjiyotensin II ile sodyum arasındaki etkileşim açık değildir. Anjiyotensin II infüzyonu, kan basıncından bağımsız olarak kardiyak hipertrofiye neden olduğu gibi yüksek tuz alımının da kardiyak hipertrofiye yol açtığı bildirilmektedir. Anjiyotensin II sodyum birikimine neden olduğundan Anjiyotensin II'nin etkisi anlaşılabilir; fakat renin ve Anjiyotensin II seviyelerini azaltan yüksek tuz alımının, kan basıncının üzerindeki etkiden bağımsız olarak kardiyak hipertrofiye ve damar sertliğine neden olduğu yazılmaktadır. Ayrıca, düşük sodyum alımıyla Anjiyotensin II seviyeleri yükselmekte fakat kardiyak hipertrofik etki gerilemektedir (51).

Sonuç olarak renin anjiyotensin sistemi, sodyum atılımı ve arteryel basıncının uzun ve kısa süreli düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu rol, Anjiyotensin II'nin vasküler düz kas, kalp kası, adrenal korteks ve renal tübüllerdeki etkileriyle sağlanmaktadır. Anjiyotensin II'nin santral etkiyle sempatik boşalımını arttırdığı da bilinmektedir. Hipovolemik ve hipotansif durumlarda, endojen Anjiyotensin II sempatik sinir sistemini uyarmaktadır. Arteryel baroreflleksler ve kardiyak refllekslerin aktive olmaları durumunda, Anjiyotensin II'nin sempatoeksitatör etkilerinin ters yönde değişebildiği bildirilmektedir (42).

2.1.4.1.2.1 Böbrekteki Renin Anjiyotensin Sistemi

Böbreklerde anjiyotensin proksimal tübüllerde tanımlanmıştır. Proksimal tübüllerin fırçamsı kenarında bulunan yüksek konsantrasyondaki ADE ile Anjiyotensin I hızla Anjiyotensin II'e dönüştürülmektedir (52).

Böbrekte mezengiyal hücrelerde olduğu gibi afferent ve efferent arteriyollerin vasküler düz kas hücrelerinde de Anjiyotensin II AT₁ reseptör proteini olduğu bildirilmektedir. Anjiyotensin II AT₁ reseptörleri fırçamsı kenar ve bazolateral membran boyunca bulunmaktadır. Medullanın interstisyel hücreleri ve podositlerinin yüksek oranda tip 1 reseptör yoğunluğuna sahip olduğu saptanmıştır. Aynı zamanda böbrek medullasının kortekse göre daha yüksek Anjiyotensin II reseptör yoğunluğuna sahip olduğu bildirilmektedir. Renal kortekste, Anjiyotensin II, hücreler içinde olduğu gibi, tübüllerin yanında interstisyel sıvıda da bulunmaktadır. İnterstisyel sıvıdaki Anjiyotensin II konsantrasyonu plazmadakine oranla daha fazladır. İlginç olarak, normotansif sıçanlarda ve Anjiyotensin II infüzyonu yapılan hipertansif sıçanlarda medüller Anjiyotensin II seviyesi kortekse göre daha fazladır. Medulladaki yüksek Anjiyotensin II seviyeleri ve yüksek Anjiyotensin II reseptör yoğunluğu, Anjiyotensin II'nin medulladaki hemodinamik ve tübüler fonksiyondaki önemli rolünü desteklemektedir (53). Anjiyotensin II'nin bilinen proksimal tübüler etkilerinin çoğuna Anjiyotensin II tip1 (AT₁) reseptörü aracılık yapar. Anjiyotensin II AT₁ reseptörü fosfolipaz C, mitojen aktive protein kinaz ve tirozin kinazı içeren sinyal yolunu aktive eden G-protein düzenleyici mekanizmaya eşleniktir. Anjiyotensin II'nin AT₁ reseptörlerinin aktivasyonunun, fosfoinositid hidrolizine, intraselüler kalsiyumun mobilizasyonuna ve adenilat siklazın inhibisyonuna yol açtığı bildirilmektedir (54).

2.1.4.2 Sinirsel Düzenleyici Mekanizmalar

Son yıllarda barorefleks mekanizmanın arteriyel kan basıncının uzun süreli düzenlenmesinde rol oynadığına ilişkin kanıtlar bildirilmektedir.

Thrasher yapmış olduğu çalışmalarda, karotid sinüsteki baroreseptörlerin duyarlılıklarını hızlı bir şekilde değiştirebilmelerine rağmen miyelinli olmayan baroreseptör liflerinin daha yavaş adapte olduğunu ve bu nedenle kan basıncının uzun süreli kontrolünde rol alabileceğini savunmaktadır (39).

2.1.4.3 Glomerüler Filtrasyon

İnsanlarda kreatinin klirensi glomerüler filtrasyon hızının (GFH) tayini için kullanılmaktadır. Ortalama boyuttaki bir insandaki GFH yaklaşık 125 ml/dak'dır. Kapiller yatağın büyüklüğü, kapiller geçirgenlik, kapiller duvarın iki yanındaki hidrostatik ve ozmotik basınç gibi etkenlerden etkilenir. Kapiller yatağın geçirgenliği mezengial hücrelerin kasılabilme özelliği ile düzenlenmektedir. Anjiotensin II, vazopressin, noradrenalin, trombosit aktive edici faktör, trombosit kökenli büyüme faktörü, tromboksan A₂, prostaglandin F₂, lökotrien C ve D, histamin mezengial hücrelerde kasılmaya neden olur, atrial natriüretik peptit, dopamin, prostaglandin E₂, siklik AMP ise genişlemeye neden olur (39,40).

2.1.4.4 Tübüler Fonksiyonlar

Bazı peptit hormon ve küçük proteinler proksimal tübülden endositoz ile geri emilirler. Diğer maddeler tübüllerde pasif, kolaylaştırılmış difüzyon, elektriksel veya kimyasal gradyent yönünde veya aktif olarak bu gradyentlere rağmen emilir veya salgılanırlar. Taşınma; iyon kanalları, değiştiriciler, beraber taşıyıcılar ve pompalar aracılığı ile olur (55).

2.1.4.4.1 Na⁺ Geri Emilimi

Vücut elektrolit ve su metabolizmasında Na⁺ ve Cl⁻ geri Emilimi majör role sahiptir. Ayrıca Na⁺ transportu, hidrojen, diğer elektrolitler, glikoz, aminoasitler, organik

asitler, fosfatlar ve başka maddelerin tübül duvarındaki hareketlerine eşlik eder. Nefronların distal kısımlarında özellikle toplayıcı kanallarda Na^+ emilimi mineralokortikoidler, diğer hormonlar ve vücudun tüm homeostatik gereksinimlerini karşılayacak şekilde Na^+ itrahını ayarlayan ilave faktörler tarafından düzenlenir. Proksimal tübülde, Henle kıvrımının çıkan kalın kolunda, distal tübül ve toplayıcı kanallarda Na^+ tübüler lümeninden, tübüler epitel hücresi içine konsantrasyon ve elektriksel gradyent nedeniyle kotransport veya değiş tokuş ile hareket eder ve bu hücrelerden intersitisyel mesafeye aktif olarak pompalanır. Proksimal tübülden emilen sıvı hafifçe hipertondiktir ve tübülden emilen Na^+ 'un emiliminin yarattığı osmotik gradyent yönünde pasif olarak suyun hareketi emilimini sağlar (55,56).

2.1.4.4.2 Glikoz ve Aminoasitlerin Geri Emilimi

Proksimal tübülün ilk parçası boyunca glikoz, aminoasitler ve bikarbonat Na^+ ile birlikte emilir. Glikoz idrardan sekonder aktif transport ile geri kazanılan maddelerin tipik örneğidir. Esas olarak filtre edilen glikozun hepsi geri emilir ve 24 saatlik idrarda birkaç miligramdan fazla glikoz saptanmaz. Glikoz ve Na^+ lüminal membranda ortak bir taşıyıcıyla ve Na^+ elektriksel ve kimyasal gradyent yönünde hücreye girerken glikozda hücre dışına taşınır. Aktif transport için gereken enerji, Na^+ 'u hücre dışına pompalayan $\text{Na}^+ - \text{ATP}$ az tarafından sağlanır. Diğer maddelerin bazıları da açığa çıkan bu enerjiden faydalanarak sekonder aktif transport ile taşınırlar. Bu maddelere bazı aminoasitler, laktat, sitrat, fosfat, H^+ ve Cl^- dahildir. Glikoz emilimi gibi aminoasitlerin geri emilimide proksimal tübülün ilk kısımlarında en fazladır. Aminoasitler pasif ve kolaylaştırılmış difüzyon ile hücreyi terkederek intersitisyel sıvıya geçerler (56).

2.1.4.4.3 Suyun Atılması

Su atılımının düzenlenmesinde en önemli rolü vazopressinin toplayıcı tübüllere etkisi oynar. Birçok madde aktif olarak proksimal tübülden alınmasına karşın mikroponksiyonla alınan sıvının incelemesinde; sıvı proksimal tübülün sonuna kadar

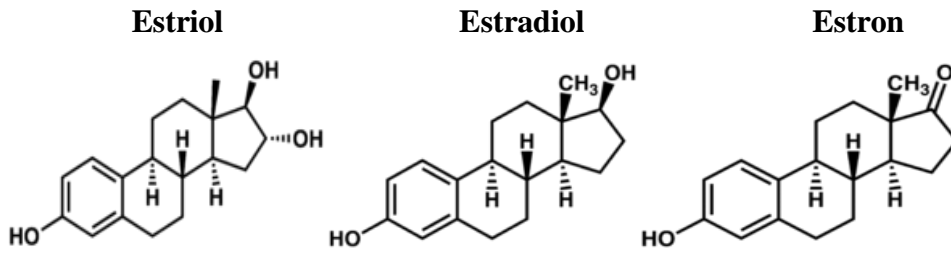
izoosmotik kalmaktadır. Bunun nedeni solütlerin aktif transportu sonucu ortaya çıkan osmotik gradyent yönünde suyun pasif olarak tübülü terk etmesi ile isotonisitenin korunmasıdır. Proksimal tübül hücrelerinin apikal membranlarındaki su kanallarının mevcudiyeti ile suyun hareketi kolaylaştırılır. Proksimal tübülü geçen içerik Henle kıvrımına ulaşır. Henlenin inen kolu suya karşı geçirgendir fakat çıkan kolda suya karşı geçirgenlik yoktur. Böylece su hipertonic intersitisyuma geçerken Henlenin inen kolundaki sıvı hipertonic hale gelir. Çıkan kolda ise Na^+ ve Cl^- un tübül lümeni dışına çıkması nedeniyle sıvı daha fazla dilüe olur ve tepeye ulaştığı zaman plazmaya nazaran daha hipotoniktir. Suyu nispeten geçirimsizdir, solütü suya nazaran daha fazla geçirmeye devam ederek tübül sıvıyı daha da seyreltir. Filtre edilen suyun takriben % 5'i bu segmentten geri emilir. Toplayıcı kanallar filtratı korteksten böbrek pelvisine taşıyan kortikal ve medüller olmak üzere iki kısma sahiptir. Hipofizin arka lobundan salgılanan bu antidiüretik hormon toplayıcı kanallardaki ana hücrelerin membranlarına su kanallarının yerleşmesini hızla arttırarak suya karşı geçirgenliği arttırır. Yeterli vazopressin mevcudiyetinde kortikal toplayıcı kanala giren hipotonik sıvıdan su kortikal intersitisyuma çıkar ve tübül sıvı izotonik hale gelir. Bu filtre edilen suyun % 10 kadarı geri alınır. İnsanda idrar osmalalitesi, plazma osmalalitesinin hemen hemen 5 katı olan 1400 mosm/l e yükseltilebilir ve süzülen suyun % 99,7'si emilerek sadece % 0,3'lük kısmı idrarla atılır (56,57).

2.1.4.4 Ürenin atılımı

Üre medüller piramitlerde osmotik gradyentin teşekkülüne ve toplayıcı kanallarda konsantre idrar oluşumuna katkıda bulunur. Üre pasif olarak proksimal tübül dışına çıkar, toplayıcı kanalların iç kısmı dışında kalan tübül epitel hücreleri üreye geçirgen değildir. Böylece üre, Henle kulbu ve distal tübülde ilerlerken suyun emilmesi sonucu yoğunlaştırılır. Üre iç medülladaki toplayıcı kanallara ulaştığı zaman hücreler arası mesafeye geçerek piramitler bölgesinde intersitisyel hiperosmolariteye katkıda bulunur. Toplayıcı kanalın bu bölgesindeki üre hareketi vazopressin ile kolaylaştırılır. İdrardaki üre miktarı süzölmüş olan üre miktarına göre değişiklik gösterir. Dolayısıyla proteinden zengin diyet böbreğin idrarı yoğunlaştırma yeteneğini arttırır (39).

2.3 Estrojen

Doğal estrojenlerin başlıcaları estradiol, estron ve estrioldür (Şekil 2.2). Kadınlarda estrojenik etkiden asıl sorumlu ana estrojen hormon estradiol (17 β estradiol)'dür. 18 karbonlu bir steroiddir ve A halkası aromatik (fenolik) niteliktedir; 3 numaralı karbondan bir -OH grubu ve 17 numaralı karbondan bir β -OH grubu içerir.



Şekil 2.2 Estriol, estradiol ve estronun yapısı (58).

Estrojenler diğer steroid hormonlara oranla çok daha etkin bileşiklerdir, ufak miktarlarda da etki oluşturabilirler. Bir günde sentez edilen ve salgılanan estriol miktarı 0,5 mg'dan azdır, diğer steroid hormonların günlük salgılanan miktarları ise çok daha yüksektir. Şöyle ki estradiolün günlük salgılanan miktarı, salgılanma hızının en yüksek olduğu siklus ortası dönemde günde 25-100 μ g ve luteal dönemdeki maksimum değeri günde 10-80 μ g'dır. Salgılanmanın siklik özellik göstermesi nedeniyle, plazmadaki estradiol konsantrasyonu da buna uygun olarak değişir. Menstrüel siklusun ilk günlerinde plazma estradiol düzeyi 6 ng/dl kadardır. Ovülasyondan önceki yükselme sırasında bu değer 33-70 ng / dl'ye ulaşır. Estron salgılanması genel olarak estradiolunkine yakın bir hızda olur. Erkeklerde estrojen düzeyi, kadınlarda yükselmeler dışında kalan zamanlardaki taban düzeye yaklaşık olarak eşittir (52).

2.3.1 Estrojenlerin Sentezi

Dişi cinste estrojenlerin büyük kısmı, özel durumlar hariç overlerde graaf folikülünde sentez edilirler, sentez yeri graaf folikülün granuloza hücreleridir. Overlerdeki sentezde estrojenlerin prekürsörleri, teka hücrelerinde yapıp granuloza hücrelerine sunulan androjenik maddelerdir. Şöyle ki, androstenedion overlerde estrona ve kısmen de testosterona dönüştürülür. Testosteron ise dimetilasyon ve aromatisasyon sonucu estradiol'a çevrilir.

Estrojen sentezi;

1) Plasentanın sinsityotrofoblast hücreleri gebelik sırasında yüksek miktarda estrojen ve progesteron sentez eder. Bu hücreler aromataz enziminden zengindir. Ancak plasenta sentezin ön basamaklarını oluşturmak için gerekli enzim sistemine sahip değildir. Bu nedenle estrojen sentezi için gereken estrojen prekürsörlerinin çoğunu fetusun adrenal korteksinden sağlar. Annenin idrarla çıkardığı günlük estriol miktarının izlenmesi, gebeliğin sonuna doğru fetusun sağlık durumunu izlemekte kullanılan bir yaklaşımdır. Plasedada progesteron, annenin kan dolaşımı içinde gelen prekürsör pregnenolondan sentez edilir. Progesteron gebeliğin sürdürülmesi için gerekli bir hormondur.

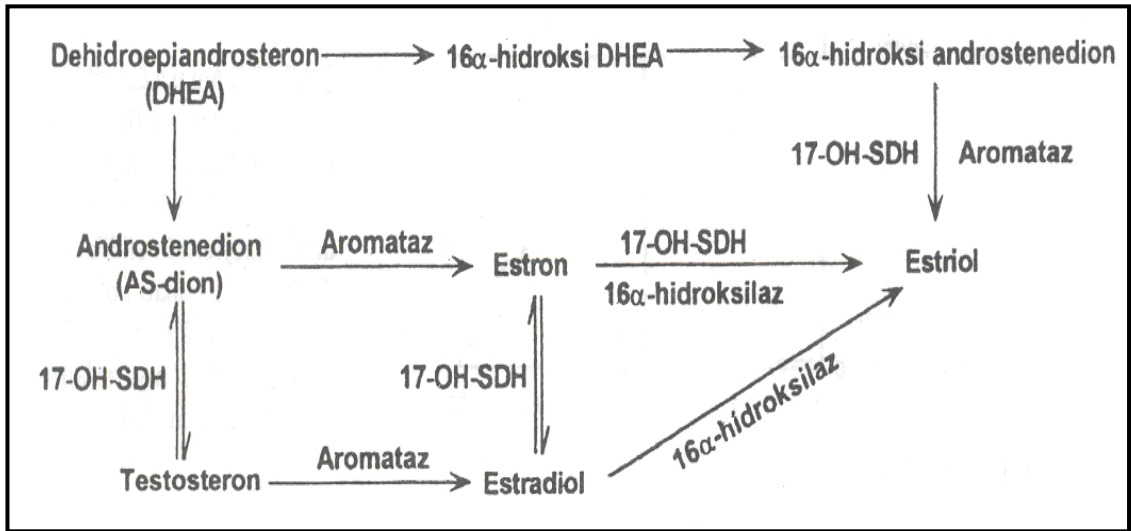
2) Adrenal korteksinde dehidroepiandrosteronun dehidrojenasyonu sonucu oluşan androstenedion kısmen estrona ve o da estradiola dönüştürülür. Postmenapozal dönemdeki kadınlarda veya overektomi yapılmış olanlarda varolan estrojenin az bir kısmı adrenal kortekste sentez edilen estrojenlerdir. Büyük kısmı ise adrenallerden salgılanan androstenedionun over dışı yapılarda dönüşümünden oluşan estrojenlerdir.

3) Testislerde, leydig hücreleri, testosteron yanında, testosterondan ve androstenediondan az miktarda oluşan estrojenleri de salgırlar.

4) Başta yağ dokusu olmak üzere çeşitli dokular (karaciğer, böbrek, akciğerler, cilt, beyin, çizgili kaslar vb) kadınlarda büyük kısmı adrenal korteksinden kan dolaşımına dökülen androstenedion ve testosterondan estron ve estradiol sentez ederler (59).

Premenapozal dönemde vücutta oluşan estronun yaklaşık % 25'i over dışı kaynaktan, % 75'i ise overlerden gelir. Postmenapozal kadınlarda ise estrogenin ana kaynağı adrenal korteksinden salgılanan androstenediondan oluşan estrondur.

Androstenediondan estron ve testosterondan estradiol oluşumu aromataz enzimi tarafından katalize edilir ve steroid içindeki A halkası aromatik (üç çift bağlı) duruma getirilir. Aromataz enzimi, over ve plasenta dışında, implante olmamış blastokistte, kadınlarda yağ dokusunun stroma hücrelerinde, erkeklerde leydig ve sertoli hücrelerinde ve hem erkeklerde hem de kadınlarda karaciğer, cilt, çizgili kaslar ve beynin çeşitli bölgelerinde bulunur (Şekil 2.3).



Şekil 2.3 Estrojen Sentezi (59)

2.3.2 Dağılım ve Metabolizma

Estrojen, plazmada albümine ve seks hormonu bağlayan globulin (SHBG) adı verilen bir beta-globuline büyük ölçüde bağlanırlar. Estadiolün yaklaşık %70'den fazlası bağlı durumdadır. SHBG karaciğerde yapılır ve sentezi estrojenler tarafından artırılır, artma sentez yapan enzimlerin indüksiyonu sonucu meydana gelir. SHBG erkeklerde

testosteronu da bağlar ve testosterona karşı afinitesi estradiole göre daha fazladır. Bu nedenle SHBG'e testosteron bağlayan globulin (TBG) adı da verilir. Estrojenler SHBG'e yüksek oranda bağlanırken albumine gevşek bir şekilde bağlanırlar. Ancak albumin SHBG'e göre daha yüksek kapasiteli bir bağlanma yeridir (59).

Estradiol ve estron karaciğer hücrelerinde iki yönlü bir reaksiyonla birbirlerine dönüştürülürler. Estradiol'un estrona dönüşümünü katalizleyen enzim 17β -hidroksisteroid dehidrojenaz enzimidir. Estron ve estradiolün karaciğer ve diğer bazı dokularda oluşan ilk ve en önemli metaboliti estrioldür, bu dönüşümün enzimi 16α -hidroksilaz enzimi ile 16α -hidroksi estron üzerinden olur. Estradiol ve estronun estriol'e dönüşümü bunların estrojenik etkinliğini önemli ölçüde azaltır. Estriol'un parsiyel agonist etkisi vardır. Güçlü estrojenik etkinlik gösteren estradiol ile birlikte verildiğinde, estrojene duyarlı bazı yapılarda ki estrojen reseptörleri estriol tarafından bloke edildiğinden estriolün etkinliği azalır. O halde estriol anti-estrojenik etkinlik de gösterebilir. Vajina ve servikste estriol, estradiolün etkisini önlemez.

Estradiol, estron ve bunlardan oluşan estriol, karaciğerde sülfirik asid ve glukronik asid ile konjüge edilerek inaktif duruma getirilirler. Bu konjugatların bir kısmı safra içinde itrah edilir, fakat safra içinde ince barsağa gelen konjugatlar enterohepatik sıklusa girerler (59).

2.3.3 Estrojen Reseptörleri

Estrojen reseptörleri nükleer reseptör süperfamilyasının üyesidir. 17β -estradiol estrojen alfa / beta ($ER\alpha/\beta$)'ya bağlanan asıl liganddır. 17β -estradiol gonadlar ve adrenal korteks yoluyla kan dolaşımına sekrete edilir. Estrojen reseptörleri yoluyla, çeşitli dokuların diferansiyasyon ve proliferasyonu, üreme fonksiyonları seksüel davranışlar ve gelişiminde belirgin rol oynar (60).

Estrojen reseptörlerinin (ER) karakteri 1960'larda ortaya konmuştur. Bundan sonra insan ER cDNA başarılı bir şekilde klonlanmıştır (61). Klasik estrojen reseptörü

olarak ER α tanımlanmış iken, 1990'larda sıçan prostatında ikinci olarak ER β reseptörü bulunmuştur (62). Estrojen reseptörleri ligand ile indüklenen transkripsiyon faktörleri olarak kabul edilmektedir. Lipofilik estrojen hücre membranını serbest olarak geçer ve estrojen reseptörlerine bağlanır. Reseptörlerde konformasyonel değişikliğe yol açar, estrojen-ER komplekslerinin nükleer translokasyon ve homo/heterodimerizasyonuna izin verir. Bunlar hedef genlerin promotör bölgesi üzerindeki estrojen yanıt elementine bağlanırlar (ERE) (61). Estrojen yanıt elementinin promotör bölgesinde SP1 veya aktivatör protein 1 (AP1) ile protein-protein etkileşimi yoluyla direkt veya indirekt bağlanırlar. Böylece transkripsiyon mekanizması ile etkileşimi yoluyla gen ekspresyonu düzenlenir, mRNA seviyelerinde artış veya azalma ve ilişkili protein üretimi ve fizyolojik yanıtlarla sonuçlanır (63).

ER α , 6 nolu kromozomun uzun kolunda ki bir genden 8 ekzon içeren 6.8 kilobazlık mRNA'dan dönüştürülür. Yaklaşık 66.000 moleküler ağırlığına sahip ve 595 aminoasitlidir. Alfa reseptörün yarı ömrü yaklaşık 4-7 saattir. Estrojen reseptör-alfa hızlı dönüşümü olan bir proteindir. Daha yakın zamanda keşfedilen estrojen reseptör-beta kromozom 14, q22-q24'de lokalize bir gen tarafından kodlanır (64). Estrojen reseptörleri değişik dokularda farklılıklar gösterir. Örneğin; ER β beynin belirli bölgelerinde ve kardiyovasküler sistemde hakim olan estrojen reseptörüdür. Spesifik estrojenlere farklı ve selektif cevaplar verir. Over folikülündeki granuloza hücrelerindeki estrojen reseptörleri sadece ER β mRNA'sı içerir. İnsan akciğeri her iki reseptörü de içerir. Alfa ya da beta estrojen reseptörüne bağlanan aynı estrojen zıt etkilere neden olabilir. Örneğin; estradiol ER α ile gen transkripsiyonunu stimüle ederken aynı sistemde ER β ile gen transkripsiyonunu inhibe eder (64).

Steroid hormonların genomik etkileri bir saat veya daha uzun süren kısmen yavaş oluşan bir cevapla karakterizedir. Fakat bazı steroid hormon etkileri birkaç dakika gibi kısa sürede meydana gelir ve bu hızlı cevabın oluşmasında nongenomik mekanizmalar etkili olmaktadır. Bu hızlı cevaplar aynı zamanda gen transkripsiyon ve protein sentez inhibitörlerinden etkilenmezler. Hızlı cevaplar bütün steroid hormonlar için bildirilmiştir, membrandan sodyum ve kalsiyum transportunu içermektedir. Pek çok steroid hormon için spesifik hücre membran reseptörleri tanımlanmıştır (64).

2.3.3.1 G Protein Kenetli Reseptörler (GPCR)

G proteini ile ilişkili reseptör 30 G proteini ile ilişkili estrogen reseptör 1 (GPER1) olarak isimlendirilmiştir. Yedi transmembranel domainli G proteini ile ilişkili reseptöre (GPCR) 17 β -estradiol'ün yüksek afinite ile bağlandığı ve estrogenik sinyallere aracılık ettiği bulunmuştur (65). GPER1 reseptörünün patofizyolojik rolünü anlamak için çalışmalarda GPER1 geni “knock-out” fareler kullanılmaktadır (66,67). GPER1 reseptörüne ER α ve ER β 'dan çok daha yüksek affinite ve selektivite ile bağlanan G1 maddesi bulunmuştur (68). G1 farmakolojik ajan olarak GPER1 reseptörünün rolünü araştırmak için sıklıkla kullanılırken GPER1 antagonisti G15 daha kısıtlı sayıda çalışmada kullanılmıştır (69) ve selektif etkiye sahiptir (Şekil 2.4).

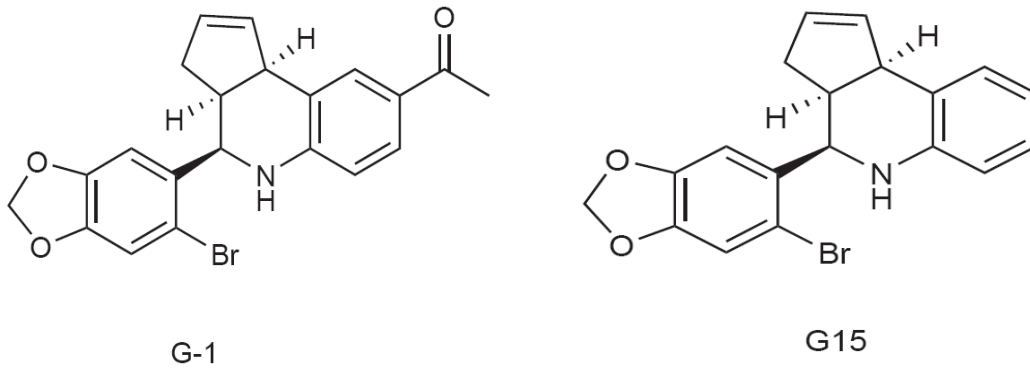
GPER1, G_{os} ile bağlanarak siklik adenosin monofosfat (sAMP) stimülasyonuna, pertusis toksin (PTX) duyarlı G_{oi} ile bağlanarak sAMP üretimin azalmasına neden olur (70). GPER1 ekspresyonu olmayan MB-231 meme kanser hücrelerinde GPER1 gen transfeksiyonundan sonra 17 β -estradiol stimülasyonu sonrası cAMP üretimine ve PTX duyarlı ekstraselüler düzenleyici protein kinaz 1/2 (ERK1/2) aktivasyonuna neden olduğu gösterildi (70). Estrojenin arttırdığı vasküler düz kas hücre apoptosisi GPER1 aracılı ve protein kinaz A (PKA), fosfoinositid 3- kinaz (PI3K) aktivasyonuna bağlıdır (71).

İnsan, sıçan, fare kalp ve kan damarlarında GPER1 mRNA ile birlikte protein ekspresyonu gösterilmiştir (72,73). İnsan ve kemirgen miyokardiumunda (73) ve kardiyomiyosit hücrelerinde GPER1 mRNA ile birlikte protein ekspresyonu gösterilmiştir (74). Erkek hayvanlarda GPER1 yokluğu sol ventrikül genişlemesine ve diyastol sonu basınç artışına neden olurken dişi hayvanlarda böyle bir etki gözlenmemiştir (75). Kardiyomiyosit hücrelerinde miyokard infarktüsü sonrası GPER mRNA ve protein ekspresyonu artışına neden olmuştur (74). Dişi ve erkek kemirgenlerde miyokard infarktüsü sonrası G1 uygulamasının reperfüzyonla oluşan yaralanmayı ve anormal kontraktıl fonksiyonları azalttığı gözlemlenmiştir (76). İskemik koşullarda G1 miyokardial proinflamatuvar sitokinlerin (IL-1 β , IL-6, TNF) ekspresyonlarının azalmasına (77), eNOS fosforilasyonunun artışına (78) ve

mitokondrial membran permabilitesinin azalmasına neden olur (79).

İnsan endotel ve vasküler düz kas hücrelerinde GPER aktivasyonu hücre proliferasyonunun inhibisyonuna neden olur (71,80). İnsan, domuz ve kemirgen arterlerinde G-1, genistein ve ICI 182780 vazodilatasyona neden olurken oluşan vazodilatasyonu GPER1 antagonisti G15 ortadan kaldırmıştır (81). GPER agonisti G1 normotansif (29) ve hipertansif sıçanlarda kan basıncını düşürür. Kardiyomiyopati hipertansif sıçanlarda G1 uygulaması diastolik disfonksiyonu düzeltirken, kardiyak hipertrofiyi azaltmıştır (82). Bu yararlı etkiler G1'in vazodilatör etkisiyle ilişkili olabilir. G-1'in vazodilatör etkisi nitrik oksit bağımlı ve bağımsız olarak meydana gelebilir ve GPER aktivasyonu eNOS fosforilasyonuna aracılığıyla insan, domuz ve kemirgen arterinde gevşeme yanıtı meydana getirebilir (26,27,81).

Böbrek tubül ve epitelyum hücrelerinde yüksek miktarda GPER ekspres edilir (83,84). İnsanda G1 uygulaması vasküler disfonksiyon ve böbrek yaralanmalarına karşı koruyucu etkiler oluşturabilir (26). Hipertansif sıçanlarda GPER aktivasyonu proteinüriyi azaltmış ve kreatin klirensini artırmıştır (85).



Şekil 2.4 GPER1 selektif agonisti G1 ve GPER1 selektif antagonisti G15 kimyasal yapısı (69).

2.3.4 Estrojenin Etkileri

2.3.4.1 Estrojenin Seks Karakteristikleri ve Genital Kanal Üzerine Etkileri

Estrojen kadınlarda memelerin büyümesi, kalça yağ toplanması ve kadınsal davranışların ve libido artışını sağlar (59). Estrojen pubertede uterusun büyümesini, menstrüel siklusun ilk yarısında endometriyum hücrelerinde proliferasyonu ve uterus kontraktilesini artırır, vajinada epitelin kalınlaşmasını ve keratinizasyonunu sağlarlar, hücrelerin glikojen içeriğini ve vajina ortamını asitleştirir, vaskülaritesini artırır (59).

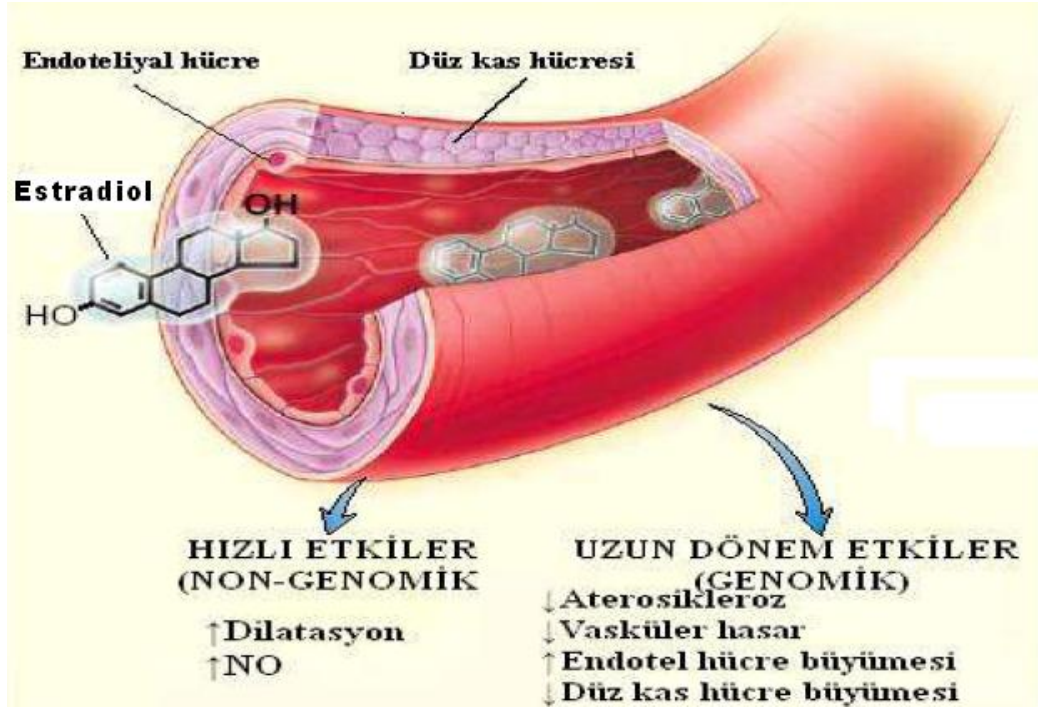
2.3.4.2 Estrojenin Kemik ve Metabolizma Üzerine Etkileri

Estrojenler, kemik matriksinin normal şekilde sürdürülebilmesi ve matrikste Ca^{2+} çökmesi için gereklidirler ve kemikte Ca^{2+} rezorbsiyonunu inhibe ederler. Estrojenler HDL ve VLDL sentezini artırırken LDL sentezini inhibe eder, total kolesterol düzeyini düşürür, safranin kolesterol içeriğini, protein sentezini, koagülasyon faktörlerinin sentezini artırır (II, VII, IX, X). Ayrıca su ve tuz emilimini artırır. Estrojenler antitrombin III sentezini azaltırlar (59).

2.3.4.3 Estrojenin Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri

Kardiyovasküler sistem estrojen için önemli bir hedeftir. Koroner arterlerdeki estrojene bağlı vazodilatasyonun kısmen nongenomik kalsiyum akış mekanizmasına bağlı olduğu düşünülmektedir (64). Kalp hastalıkları riski erkeklerde yaşla birlikte artarken, premenapozal kadınlarda bu risk düşüktür. Menapozla birlikte hızlı bir artış gösterir (86). Postmenapozal dönemde estrojen replasmanı alan kadında kardiyovasküler mortalite almayan kadınlara göre %30-50 daha düşüktür. Estrojenin kardiyovasküler koruyucu etkilerinin, lipid profilindeki antiaterojenik etkisine ve arter duvarı ve endoteldeki direkt etkisine bağlı olduğunu göstermiştir (Şekil 2.5). Estrojen replasman

tedavisi düşük dansiteli lipoprotein (DDL) düzeyini azaltırken, yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) düzeyini artırır. Ayrıca arter duvarında kolesterol depolanmasını ve aterosklerotik plak oluşmasını önlediği gösterilmiştir (87,88)



Şekil 2.5 Estrojenin endotel hücresi üzerinde genomik ve non-genomik etkileri (87).

Nitrik oksidin (NO), ateroskleroz gelişimini damarlarda gevşemeye neden olarak ve endotelde monosit adezyonuna engel olarak önlediği bildirilmektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda estrojenin vasküler tonus üzerine olan etkisini endotelde NOS-3 aktivitesini kontrol ederek gösterdiği öne sürülmektedir. 17 β -estradiolün NOS-3 aktivitesini reseptöre bağlı olmayan bir mekanizma ile inhibe ettiği düşünülmektedir. Aynı zamanda 17 β -estradiol, NOS-3 üzerinde Ca²⁺ / kalmodulin sistemini etkileyerek de etki gösterebilir (88). Uzun süre estrojene maruz kalmanın neointimal ve vasküler düz kaslardaki proliferasyonu azalttığı, hem invivo hemde in vitro olarak arterleri tekrar remodelize ettiği gösterilmiştir. Arterlerin uzun süre estrojenlere maruz kalmasının kasıcı ajanlara karşı oluşan cevabı azaltırken, gevşetici ajanlara karşı oluşan cevabı artırdığı

bildirmektedir. Estrojenin bu etkisi, bazal veya agonistle stimüle edilen endotelden salgılanan gevşetici faktörler (NO gibi), prostasiklin ve henüz tanımlanmamış gevşetici mediyatörlerle ilişkisi olabilir. Estrojen endotelyal fonksiyonlara etkilerinin yanı sıra, vasküler düz kaslarda intrasellüler sinyal yollarını değiştirebilir ve böylece kasıcı ajanlara karşı oluşan vasküler cevap verilebilirliği azaltır. Estrojenin vasküler duvardaki uzun süreli etkilerinin endotel ve düz kaslardaki estrojen reseptörlerinin aktivasyonuna ve sonuç olarak gen ekspresyonunun düzenlenmesine bağlı olduğu düşünülmektedir. Estrojene uzun süre maruziyet vasküler endotelde endotelyal NO sentaz gen ekspresyonunu upregüle eder ve vasküler düz kasta fosfoinositid turnoverini ve inozitol trifosfat oluşumunu azaltır. Bu da nörotransmitter ve humoral faktörlere karşı uzun süre estrojenle indüklenen vasküler duyarlılıktan sorumludur.

Estrojen vasküler tonusta direkt ve akut etkiler sahiptir. Estrojenin arterleri hem endotele bağımlı ve hem de endotelden bağımsız mekanizmalarla gevşettiği bildirilmiştir. Endotelden bağımsız estrojenle indüklenen gevşeme genellikle Ca^{2+} kanallarının blokajına, Ca^{2+} influksunun inhibisyonuna ve dokudaki sAMP, sGMP düzeylerindeki değişime bağlıdır, oysa estrojenle indüklenen endotele bağımlı gevşemenin vasküler endotelden NO oluşumunun stimülasyonu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (89).

2.3.4.4 Estrojenin Santral Sinir Sistemi Üzerine Etkileri

Estrojen, beyin çeşitli bölgelerindeki nöron membranlarında bulunan estrojen reseptörlerini [ER α (ER1) ve ER β (ER2)] doğrudan etkileyerek beyin işlevleri üzerinde etkili olmaktadır. Estrojenin nöroprotektif ve nörotrofik etkileri vardır. Estrojenin nöronları oksidatif strese, iskemiye, hipoglisemiye ve Alzheimer hastalığı patogenezinde rolü olan amiloid proteine karşı koruyucu etkisi vardır. Sinir büyüme faktörleri oluşumunu uyarır ve bu nedenle, nöron gelişimini ve yaşamını artırır, hasarlı nöronları onarır ve dendrit dallanmasını artırır. Estrojen, sinapslarda serotonin, dopamin ve noradrenalin yoğunluğunu, salınmalarını, gerilimlerini ve enzimatik inaktivasyonlarını etkiler ve reseptör sayılarını artırır. Estrojen, kan damarları endoteliumundaki

reseptörlerine bağlanarak nitrik oksit salınmasını uyarır ve vazodilatasyona neden olarak serebral perfüzyonu artırır. Ayrıca, estrogen antiinflamatuvar etkiyle kan damarlarını sitokinlerin ve serbest radikallerin zararından koruyarak ve plak oluşumunu engelleyerek serebral kan akımını güçlendirir (90). Seks steroidleri beyin hücreleri üzerine güçlü anestezi ve anksiyolitik etkilidir (91). Bu etki GABA-A reseptörlerin direkt nongenomik düzenlenmesi üzerine büyük ölçüde bağımlıdır (92). Hipofiz hücrelerinde GABA-A reseptörleri progesteron tarafından da kullanılır (93). Seks steroidleri beyinde protein kinaz kaskadını düzenler. Nöroblastoma hücrelerinde 17 β -estradiol, MAPK'ları aktive eder. Bu etki klasik nükleer mekanizmaların etkisinden bağımsızdır, fakat ICI 182780 veya tamoksifen tarafından bloke edilmez (94).

2.3.4.5 Estrojenin Bilişsel İşlev Üzerine Etkileri

Sağlıklı yaşlı kadınlarda da, beyin volümü perimenopozal dönemde estrogen seviyelerinin düşmesiyle birlikte azalmaya başlar. Atrofi, özellikle bellek ve bilişsel işlevle ilişkili beyin bölgeleri olan hipokampus ve parietal lobda görülür. Erkeklerde beyin volümündeki benzer bir kayıp belirli bir dekada kadar (60'lı yaşlar) başlamaz. Bunun nedeni erkek seks hormonları oluşumunun yaşla birlikte daha tedrici olarak azalmasıdır. Testosteronun estrojene aromatisasyonundan dolayı, 60 yaşın üzerindeki erkekler aynı yaşta kadınlarla göre, yaklaşık 3 kat daha fazla dolaşan estradiole sahiptir (95).

Kadınlardaki bu serebral değişimler, perimenopozal dönemde sözel bellek sorunlarına neden olur. Bilişsel işlev kaybı, endojen estrogen yetersizliği ile ilişkili olabilir. Bir osteoporoz çalışmasında, düşük kemik yoğunluğu gösteren kadın grubunda daha sık demans belirtileri görülmüştür. Doğal menopoza giren kadınların menopozdan 5 yıl kadar sonra bellek bozukluğu gösterme olasılığına karşın, ooforektomi geçiren premenopozal kadınlar, ani ve şiddetli estrogen düşüşüne bağlı olarak, ameliyattan 2 ay gibi kısa bir süre sonra estrogen replasman tedavisi ile geri dönebilen bilişsel işlev bozuklukları gösterirler (96).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1 Deney Hayvanları

Deneylerde Mersin Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezinden sağlanan 16-24 haftalık 200-300 g ağırlığında Wistar albino türü erkek ve 16-24 haftalık 185-215 gr ağırlığında Wistar albino türü dişi sıçanlar kullanıldı. Çalışmalara başlamadan önce Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik kurulundan onay alındı. Deney hayvanları 12 saat karanlık 12 saat aydınlık ortamda, % 45-65 nem oranı 22 ± 1 °C sabit oda sıcaklığında sağlanan Mersin Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında barındırıldı.

3.2 Cerrahi İşlem

Sıçanlar dekapite edilerek süratle abdomen açıldı. Abdominal aortanın renal artere dallandığı bölümüne küçük bir kesi yapıldı. 10 ml heparinize (100 U/mL) ön oksijenlenmiş ve ısıtılmış Krebs solüsyonu (NaCl 118 mM, KCl 4.8 mM, CaCl₂ 2.5 mM, MgSO₄ 1.2 mM, NaHCO₃ 25 mM, KH₂PO₄ 1.2 mM, ve glukoz 11mM) ile dolu şırıngaya bağlı bir polietilen kateter (18 gauge) renal artere yerleştirildi. Daha önceden renal arter çevresine yerleştirilmiş olan ip (Diadora, Turkey) sıkıca bağlanarak kateterin sabitlenmesi sağlandı. Kateterin yerleştirilmesinden hemen sonra böbrek kapsülünün soyulması ve böbreğin tümüyle izolasyonu sırasında hızlıca perfüzyon başlatıldı. Böbrek çevresindeki dokulardan ayrıldıktan sonra hızlı bir şekilde in-vitro perfüzyon sistemine yerleştirildi. Böbrek, deney boyunca sabit akım (8 ml/dakika) sağlayan bir peristaltik pompa (Peristar, WPI, Berlin, Almanya) aracılığı ile, ısıtılmış (37°C), gazlandırılmış (% 95 O₂ ve % 5 CO₂ gaz karışımı ile) Krebs solüsyonu ile devamlı perfüze edildi. Perfüzyon basıncındaki değişiklikler, perfüzyon sistemine bağlı bir basınç transdusörü (COMMAT, Ankara Turkey) aracılığı ile devamlı olarak monitorize edilerek Biopac veri kayıt sistemine (Biopac MP35 systems, Kaliforniya, ABD) kaydedildi. Kullanılan ilaçlar perfüzyon sıvısına eklendi veya böbreğe yakın bir yerden perfüzyon hortumuna 0.1 ml

hacim içinde bolus olarak verildi.

3.3 Böbrek Perfüzyon Deneyleri

İzole sıçan böbreği 37 °C'ye kadar ısıtılmış % 95 O₂ ve %5 CO₂ ile devamlı gazlandırılan Krebs solüsyonu ile perfüze edildi. 50 dakika dengelenme dönemini takiben, perfüzyon sıvısına 0.5 µM fenilefrin eklenip perfüzyon basıncı artırıldı. Fenilefrinin oluşturduğu vazokonstriksiyon platoya ulaştıktan sonra endotel fonksiyonunu test etmek amacıyla 0.01 µg asetilkolin bolus injeksiyonla uygulandı. Perfüzyon basıncındaki değişiklikler, perfüzyon sistemine bağlı bir basınç transdüsörü aracılığı ile devamlı olarak monitorize edilerek MP35'e kaydedildi.

3.3.1 Deney Planı

- Fenilefrinin oluşturduğu vazokonstriksiyon platoya ulaştıktan sonra endotel fonksiyonunu test etmek amacıyla 0.01 µg asetilkolin bolus injeksiyonla uygulandı ve taze Krebs solüsyonu içeren ortamda 30 dakika dengelenme dönemini takiben perfüzyon sıvısına 10⁻⁹, 10⁻⁸, 10⁻⁷, 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴ M 17β-estradiol uygulanarak bu ajanın erkek ve dişi sıçanlarda böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkisi araştırıldı (n=6).

- Fenilefrinin oluşturduğu vazokonstriksiyon platoya ulaştıktan sonra endotel fonksiyonunu test etmek amacıyla 0.01 µg asetilkolin bolus injeksiyonla uygulandı ve taze Krebs solüsyonu içeren ortamda 30 dakika dengelenme dönemini takiben perfüzyon sıvısına 10⁻⁸, 3x10⁻⁸, 10⁻⁷, 3x10⁻⁷, 10⁻⁶, 5x10⁻⁶, 10⁻⁵ M ERα agonisti PPT uygulanarak bu maddenin erkek sıçanlarda böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkisi araştırıldı (n=5).

- Fenilefrinin oluşturduğu vazokonstriksiyon platoya ulaştıktan sonra endotel fonksiyonunu test etmek amacıyla 0.01 µg asetilkolin bolus injeksiyonla uygulandı ve taze Krebs solüsyonu içeren ortamda 30 dakika dengelenme dönemini takiben perfüzyon sıvısına 10⁻⁸, 3x10⁻⁸, 10⁻⁷, 3x10⁻⁷, 10⁻⁶, 5x10⁻⁶, 10⁻⁵ M ERβ agonisti DPN uygulanarak bu maddenin erkek sıçanlarda böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkisi araştırıldı (n=5).

- Fenilefrinin oluşturduğu vazokonstriksiyon platoya ulaştıktan sonra endotel fonksiyonunu test etmek amacıyla 0.01 µg asetilkolin bolus injeksiyonla uygulandı ve taze Krebs solüsyonu içeren ortamda 30 dakika dengelenme dönemini takiben perfüzyon sıvısına 10^{-7} , 3×10^{-7} , 10^{-6} , 3×10^{-6} , 5×10^{-6} M GPER1 agonisti G-1 uygulanarak bu maddenin erkek ve dişi sıçanlarda böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkisi araştırıldı (n=9).

- Fenilefrinin oluşturduğu vazokonstriksiyon platoya ulaştıktan sonra endotel fonksiyonunu test etmek amacıyla 0.01 µg asetilkolin bolus injeksiyonla uygulandı ve taze Krebs solüsyonu içeren ortamda 30 dakika dengelenme dönemini takiben perfüzyon sıvısına 10^{-8} , 3×10^{-8} , 10^{-7} , 3×10^{-7} , 10^{-6} , 3×10^{-6} M ER α , ER β inhibitörü ve aynı zamanda GPER1 agonisti olan ICI 182780 uygulanarak bu maddenin erkek sıçanlarda böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkisi araştırıldı (n=4).

- Fenilefrinin oluşturduğu vazokonstriksiyon platoya ulaştıktan sonra endotel fonksiyonunu test etmek amacıyla 0.01 µg asetilkolin bolus injeksiyonla uygulandı ve taze Krebs solüsyonu içeren ortamda 30 dakika dengelenme dönemini takiben perfüzyon sıvısına endotelyumu uzaklaştırmak için 50mg/L saponin eklendi ve 10 dakika perfüzyon sonrasında 30 dakika dengelenme dönemini takiben perfüzyon sıvısına 10^{-7} , 3×10^{-7} , 10^{-6} , 3×10^{-6} , 5×10^{-6} M GPER1 agonisti G-1 uygulanarak erkek sıçanlarda böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkisi araştırıldı (n=6).

- Fenilefrinin oluşturduğu vazokonstriksiyon platoya ulaştıktan sonra endotel fonksiyonunu test etmek amacıyla 0.01 µg asetilkolin bolus injeksiyonla uygulandı ve taze Krebs solüsyonu içeren ortamda 30 dakika dengelenme dönemini takiben perfüzyon sıvısına 10^{-6} M GPER1 antagonisti G-15 uygulanarak 45 dakika inkübe edildi ve üzerine 10^{-7} , 3×10^{-7} , 10^{-6} , 3×10^{-6} , 5×10^{-6} M GPER1 agonisti G-1 uygulanarak erkek sıçanlarda böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkisi araştırıldı (n=5).

- Fenilefrinin oluşturduğu vazokonstriksiyon platoya ulaştıktan sonra endotel fonksiyonunu test etmek amacıyla 0.01 µg asetilkolin bolus injeksiyonla uygulandı ve taze Krebs solüsyonu içeren ortamda 30 dakika dengelenme dönemini takiben perfüzyon

sıvısına 5×10^{-6} M ROCK inhibitörü Y-27632 uygulanarak 45 dakika inkübe edildi ve üzerine 10^{-7} , 3×10^{-7} , 10^{-6} , 3×10^{-6} , 5×10^{-6} M GPER1 agonisti G-1 uygulanarak erkek sıçanlarda böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkisi araştırıldı (n=5).

- Fenilefrinin oluşturduğu vazokonstriksiyon platoya ulaştıktan sonra endotel fonksiyonunu test etmek amacıyla 0.01 μ g asetilkolin bolus injeksiyonla uygulandı ve taze Krebs solüsyonu içeren ortamda 30 dakika dengelenme dönemini takiben perfüzyon sıvısına 10^{-6} M p42/44 MAPK inhibitörü PD98059 uygulanarak 45 dakika inkübe edildi ve üzerine 10^{-7} , 3×10^{-7} , 10^{-6} , 3×10^{-6} , 5×10^{-6} M GPER1 agonisti G-1 uygulanarak erkek sıçanlarda böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkisi araştırıldı (n=4).

- Fenilefrinin oluşturduğu vazokonstriksiyon platoya ulaştıktan sonra endotel fonksiyonunu test etmek amacıyla 0.01 μ g asetilkolin bolus injeksiyonla uygulandı ve taze Krebs solüsyonu içeren ortamda 30 dakika dengelenme dönemini takiben perfüzyon sıvısına 10^{-6} M p38-MAPK inhibitörü SB203580 uygulanarak 45 dakika inkübe edildi ve üzerine 10^{-7} , 3×10^{-7} , 10^{-6} , 3×10^{-6} , 5×10^{-6} M GPER1 agonisti G-1 uygulanarak erkek sıçanlarda böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkisi araştırıldı (n=4).

- Fenilefrinin oluşturduğu vazokonstriksiyon platoya ulaştıktan sonra endotel fonksiyonunu test etmek amacıyla 0.01 μ g asetilkolin bolus injeksiyonla uygulandı ve taze Krebs solüsyonu içeren ortamda 30 dakika dengelenme dönemini takiben perfüzyon sıvısına 3×10^{-6} M tirozin kinaz inhibitörü genistein uygulanarak 45 dakika inkübe edildi ve üzerine 10^{-7} , 3×10^{-7} , 10^{-6} , 3×10^{-6} , 5×10^{-6} M GPER1 agonisti G-1 uygulanarak erkek sıçanlarda böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkisi araştırıldı (n=4).

- Fenilefrinin oluşturduğu vazokonstriksiyon platoya ulaştıktan sonra endotel fonksiyonunu test etmek amacıyla 0.01 μ g asetilkolin bolus injeksiyonla uygulandı ve taze Krebs solüsyonu içeren ortamda 30 dakika dengelenme dönemini takiben perfüzyon sıvısına 10^{-6} M PKC inhibitörü GF109203X uygulanarak 45 dakika inkübe edildi ve üzerine 10^{-7} , 3×10^{-7} , 10^{-6} , 3×10^{-6} , 5×10^{-6} M GPER1 agonisti G-1 uygulanarak erkek sıçanlarda böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkisi araştırıldı (n=4).

- Fenilefrinin oluşturduğu vazokonstriksiyon platoya ulaştıktan sonra endotel fonksiyonunu test etmek amacıyla 0.01 µg asetilkolin bolus injeksiyonla uygulandı ve taze Krebs solüsyonu içeren ortamda 30 dakika dengelenme dönemini takiben perfüzyon sıvısına 5×10^{-6} M PI3K inhibitörü LY294002 uygulanarak 45 dakika inkübe edildi ve üzerine 10^{-7} , 3×10^{-7} , 10^{-6} , 3×10^{-6} , 5×10^{-6} M GPER1 agonisti G-1 uygulanarak erkek sıçanlarda böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkisi araştırıldı (n=4).

- Fenilefrinin oluşturduğu vazokonstriksiyon platoya ulaştıktan sonra endotel fonksiyonunu test etmek amacıyla 0.01 µg asetilkolin bolus injeksiyonla uygulandı ve taze Krebs solüsyonu içeren ortamda 30 dakika dengelenme dönemini takiben perfüzyon sıvısına 5×10^{-6} M JNK inhibitörü SP600125 uygulanarak 45 dakika inkübe edildi ve üzerine 10^{-7} , 3×10^{-7} , 10^{-6} , 3×10^{-6} , 5×10^{-6} M GPER1 agonisti G-1 uygulanarak erkek sıçanlarda böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkisi araştırıldı (n=4).

- Fenilefrinin oluşturduğu vazokonstriksiyon platoya ulaştıktan sonra endotel fonksiyonunu test etmek amacıyla 0.01 µg asetilkolin bolus injeksiyonla uygulandı ve taze Krebs solüsyonu içeren ortamda 30 dakika dengelenme dönemini takiben perfüzyon sıvısına 10^{-6} M kalsiyum kanal blokörü nifedipin uygulanarak 45 dakika inkübe edildi ve üzerine 10^{-7} , 3×10^{-7} , 10^{-6} , 3×10^{-6} , 5×10^{-6} M GPER1 agonisti G-1 uygulanarak erkek sıçanlarda böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkisi araştırıldı (n=4).

3.4 Kullanılan Kimyasal Maddeler ve İlaçlar

17β-estradiol, PD 98059, SP 600125, genistein, fenilefrin hidroklorür, asetilkolin klorür, dimetilsülfoksit (DMSO) Sigma (St Louis, MO, ABD); PPT, DPN, ICI 182780, Y-27632, GF109203X, SB203580, LY294002 Tocris Cookson (Bristol, Birleşik Krallık); G1, G-15 Calbiochem (Darmsdat, Almanya); ve saponin Fluka (Deisenhofen, Almanya); ECL (Enhanced chemiluminescence) Plus Kit (Amersham Biosciences, Freiburg Almanya); GPER1 antikor ve Sekonder antikor olarak anti-rabit antikor Santa Cruz Biotechnonolgy Inc (CA, ABD) firmalarından alındı.

3.5 Homojenizasyon ve Protein Miktar Tayini

Böbrek renal arteri, medullası ve korteksi ayrı ayrı izole edildi ve her bir doku üzerine 1000 µl homojenizasyon buffer [lizis tampon: TrisHCl (pH 7.4) 50 mM, NaCl 400 mM, EGTA 2 mM, EDTA 1 mM, ditiotritol (DDT) 1 mM, fenilmetilsülfonil florür (PMSF) 10 µM, löpeptin 10 µg/ml, pepstatin 1 µg/ml, benzamidin 1 mM] konuldu homojenizatör yardımı ile homojenize edildi. Homojenizasyon işleminden sonra dokular 10.000 rpm'de 10 dk +4 °C 'de santrifüj edildi. Supernatantın 10'ar µl'si Bradford yöntemi ile protein tayini için kullanıldı. Kalan proteinler ise Western-blot yöntemi için muhafaza edildi.

Asidik coomassie brilliant mavisi G-250 boya çözeltisinin proteinlerin asidik ve bazik grupları ile etkileşerek mavi renk oluşturması esasına dayanan Bradford yöntemi ile protein miktar tayini yapıldı. Sığır serum albumini (1 µg/ml) kullanılarak 3, 5, 7.5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 (µg/ml) konsantrasyonlarda standartlar hazırlandı. 10 µl örneklerden (supernatantlar) alınarak distile su ile 100 µl'ye tamamlandı. Standart ve örneklerin üzerine 1 ml Bradford solüsyonu eklendi. Vorteksle karıştırıldıktan sonra absorbans miktarları spektrofotometrede 595 nm dalga boyunda manuel olarak ölçüldü. Prism programında çizilen standart eğriye göre protein miktar tayini µg/µl cinsinden yapıldı.

3.6 Western-blot Analizi

Böbrek dokusundan elde edilen protein karışımında hedef protein olan GPER1 varlığını göstermek amacıyla özel bir protein-protein hibridizasyon tekniği olan Western-blotlama yöntemi kullanıldı.

Öncelikle proteinler, örnek tamponu (0.5 M Tris HCl pH 6.8 0.125 M, %10'luk sodyum dodesil sülfat (SDS) 0.14 M, gliserol % 20, 2-merkaptoetanol 0.2 mM, bromfenol blue 0.03 mM) ile 1/1 oranında karıştırıldıktan sonra 5 dakika kaynatıldı. Kaynatılarak denatüre edilen proteinler örnek tamponu içeriğindeki SDS yardımı ile negatif yükle yüklenir ve hidrofobik etkileşimleri bozularak lineer hale gelirler.

Tamamen negatif yüklenen proteinler elektroforez sırasında katottan anota doğru hareket ederler. Eşit miktarlarda protein %10'lik sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel (SDS-PAGE) jele yüklenerek elektroforeze tabi tutuldu. Poliakrilamid jel matriksi farklı büyüklükte porlar içerir, bu nedenle protein karışımı jele yüklenip elektroforez uygulandığında; proteinlerin bu kanallardan geçiş hızı tamamen büyüklüklerine bağlıdır. Jelde büyüklüklerine göre ayrılan ve bantlar oluşturan proteinler elektrotransfer tekniği ile nitroselüloz bir membrana aktarıldı.

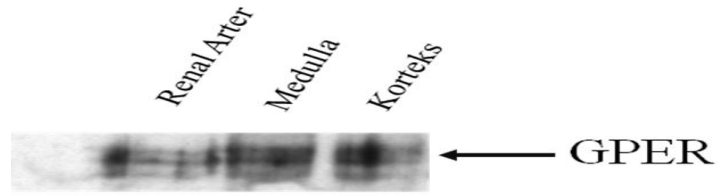
Membranlar yağsız süt tozu ve % 2'lik Tween-20 içeren Tris solüsyonu (TBS-T) ile 1 saat bloklama işlemine tabi tutuldu. Bu sayede membranların proteinsiz kısımlarının spesifik olmayan bir proteinle tutunması sağlanarak protein yapıda olan primer antikorun bir sonraki aşamada membrana non-spesifik bağlanması engellenmiş oldu. Bir saatlik bu bloklama işleminden sonra membranlar 3 kez 10'ar dakika TBS-T solüsyonu ile yıkandıktan sonra GPER1 (GPR30 (K-19)-R, sc-48524-R Rabbit polyclonal Santa Cruz) antikoruna 1:200 dilüsyonda bir saat muamele edildi. Böylelikle primer antikor membrana bağlı olan hedef protein GPER1 ile bağlanmış oldu. Bu işlem sonrasında da membranlar tekrar TBS-T solüsyonu ile 3 defa 10'ar dakika yıkandı. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra membranlar bu kez HRP (horseradish peroxidase) bağlı sekonder antikoruna 1:2000 dilüsyonda yine bir saat muamele edildi ve böylelikle sekonder antikorun gidip primer GPER1 antikoruna bağlanması gerçekleştirilmiş oldu. Bunun ardından membranlar tekrar 3 kez 10'ar dakika TBS-T içeren solüsyon ile yıkandı. Daha sonra membranlar ECL (enhanced chemiluminescence) Plus Kit (Amersham Biosciences, Freiburg Almanya) görüntüleme solüsyonu ile 5 dakika karanlıkta muamele edildikten sonra görüntülendi.

3.7 Bulguların Değerlendirilmesi

İstatistiksel analiz GraphPad Prism programı kullanılarak yapıldı. Deney gruplarında Veriler, ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi. İstatistiksel değerlendirilme için ANOVA ve Bonferroni *post hoc* testi ve gerektiğinde t testi kullanıldı. $P < 0.05$ olan değerler anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

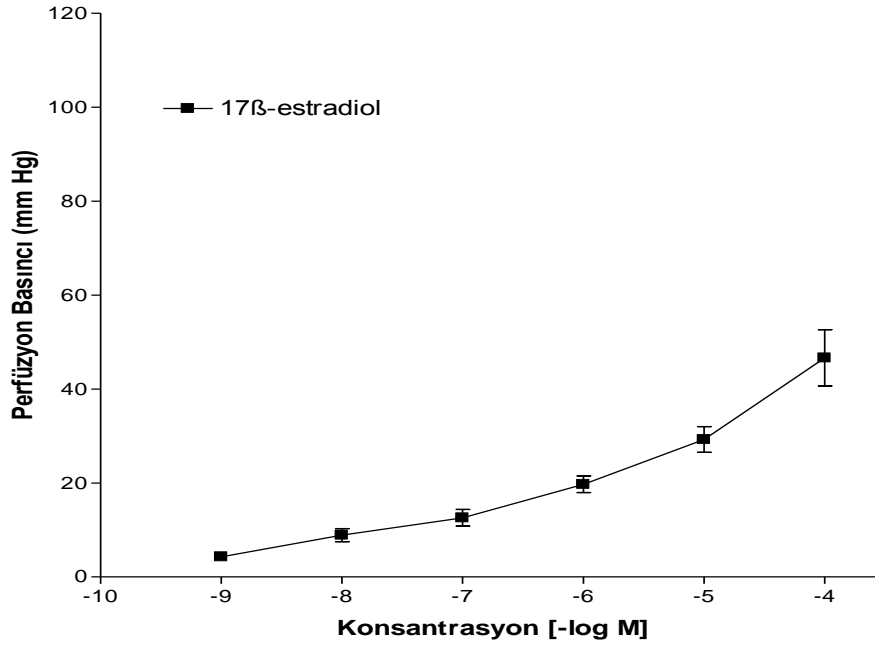
4.1 Erkek Sıçanlarda Böbrek Medulla ve Korteks Dokusu ile Renal Arterde GPER1 Protein Ekspresyonu



Şekil 4.1 Erkek sıçanlarda böbrek medulla ve korteks dokusu ile renal arterden elde edilen homojenatlarda GPER1 protein ekspresyonunun Western blot tekniği ile gösterilmesi.

4.2 Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağı Perfüzyon Basıncı Üzerine 17 β -Estradiol'ün Etkisi

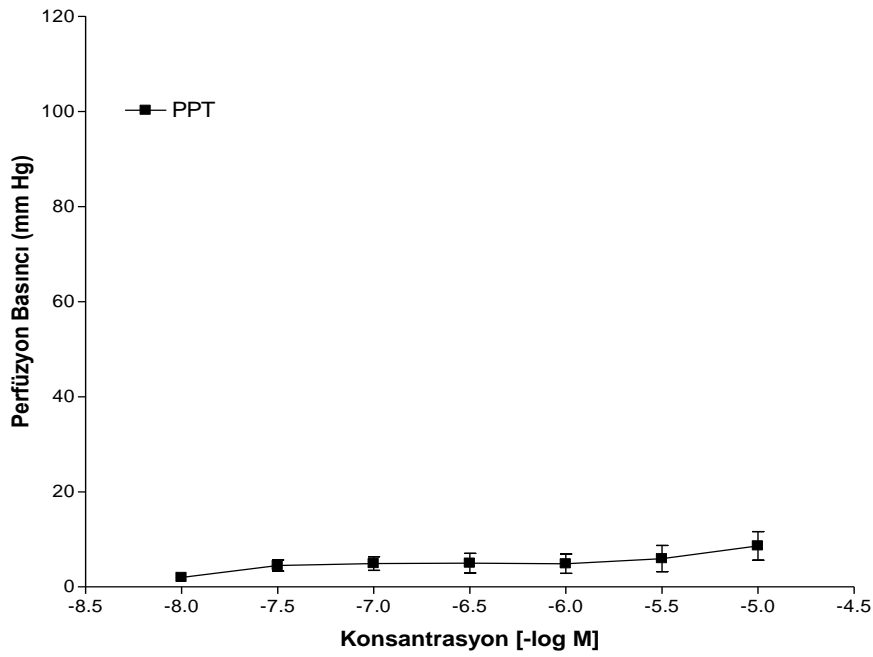
Artan konsantrasyonlarda (10^{-9} - 10^{-4} M) uygulanan 17 β -estradiol, izole erkek sıçan böbrek damar yatağı bazal perfüzyon basıncını konsantrasyon bağımlı bir şekilde artırdı. EC₅₀ değeri 7.2 ± 0.2 idi. 10^{-4} M 17 β -estradiol ile oluşturulan maksimum perfüzyon basıncı 46.6 ± 6 mmHg idi (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 17 β -Estradiol (10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} M)'ün erkek sıçanların böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkisi (n=6). İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve bunu takiben post hoc test olarak Bonferroni testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi.

4.3 Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağı Perfüzyon Basıncı Üzerine ER α Agonisti PPT'nin Etkisi

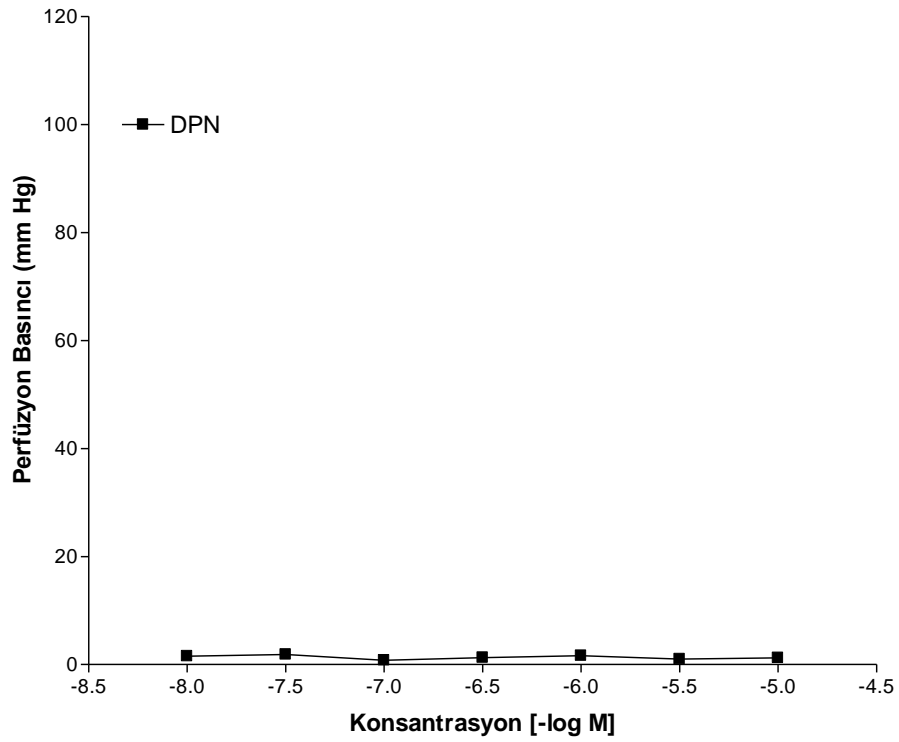
ER α agonisti PPT, böbrek damar yatağı perfüzyon basıncı üzerinde anlamlı bir artış oluşturmadı. Test edilen en yüksek konsantrasyonda (10^{-5} M) PPT ile indüklenen perfüzyon basıncı değeri 8.6 ± 3 mmHg idi (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 ER α agonisti PPT (10^{-8} , 3×10^{-8} , 10^{-7} , 3×10^{-7} , 10^{-6} , 3×10^{-6} , 10^{-5} M)'nin erkek sıçanların böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkisi (n=5). İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve bunu takiben post hoc test olarak Bonferroni testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi.

4.4 Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağı Perfüzyon Basıncı Üzerine ERβ Agonisti DPN'nin Etkisi

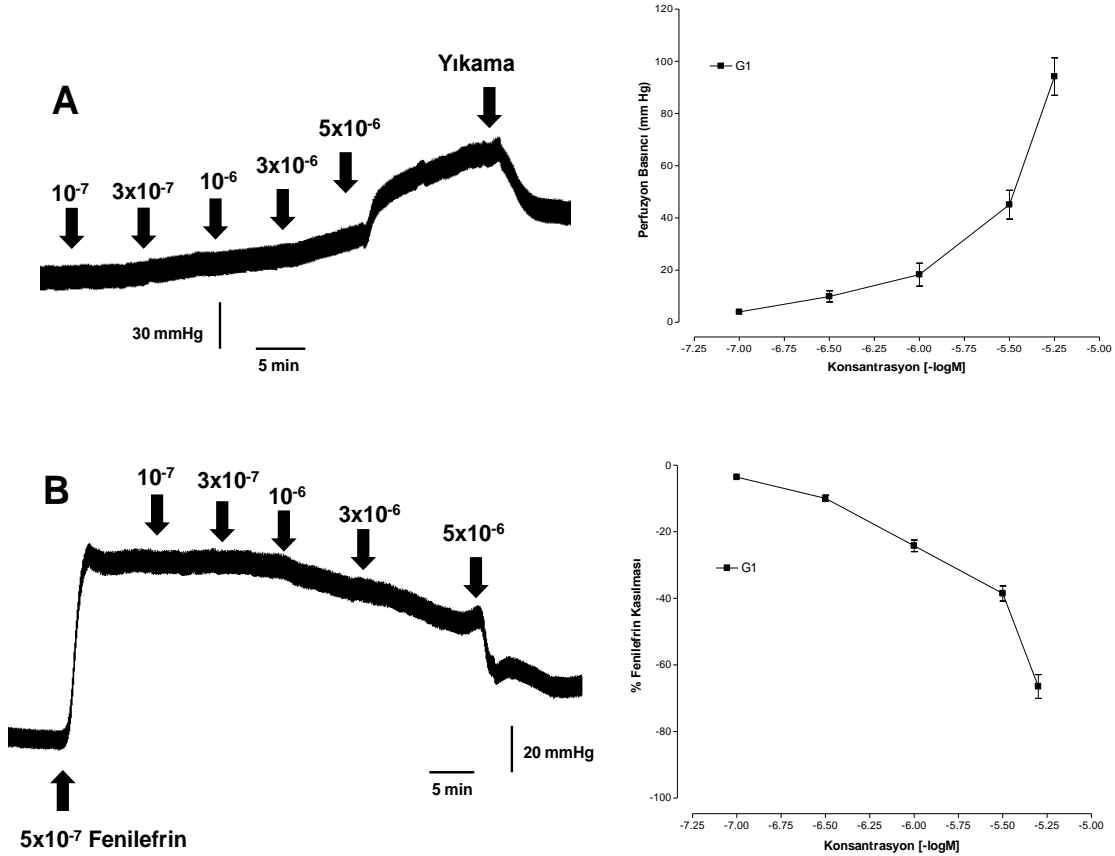
Yüksek konsantrasyonlara (10^{-5} M) çıkılmasına rağmen ERβ agonisti DPN erkek sıçanlardan elde edilen böbreklerin bazal perfüzyon basıncı üzerinde her hangi bir etki oluşturmadı (Şekil 4.4).



Şekil 4.4 ERβ agonisti DPN (10^{-8} , 3×10^{-8} , 10^{-7} , 3×10^{-7} , 10^{-6} , 3×10^{-6} , 10^{-5} M)'nin erkek sıçanların böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkisi (n=5). İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve bunu takiben post hoc test olarak Bonferroni testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi.

4.5 Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağı Perfüzyon Basıncı Üzerine GPER1 Agonisti G1'in Etkisi

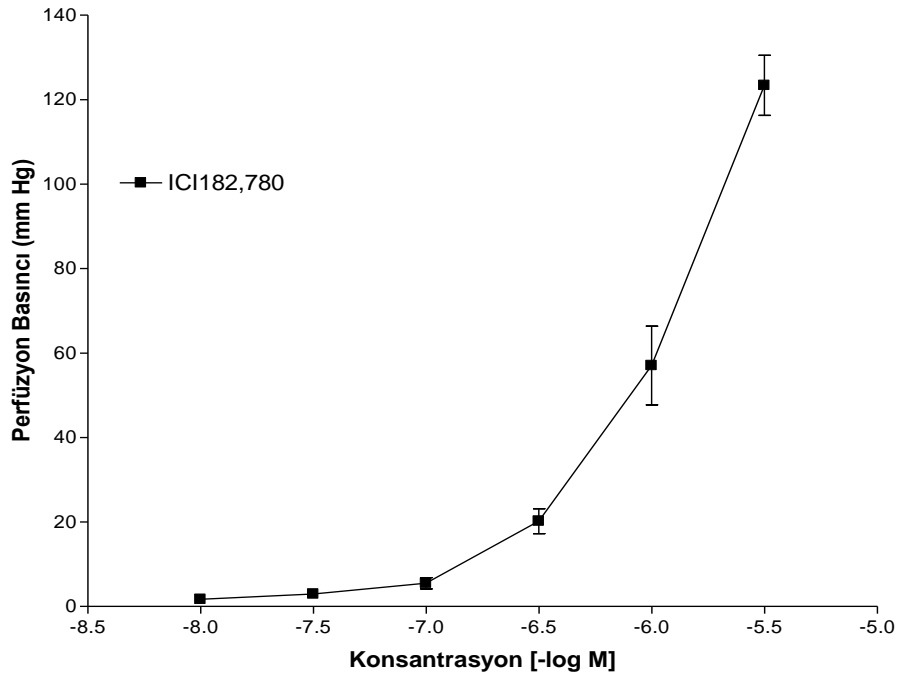
Artan konsantrasyonda (10^{-7} - 5×10^{-6} M) uygulanan GPER1 agonisti G1, erkek sıçanlardan izole edilen böbreklerin bazal perfüzyon basıncını konsantrasyona bağımlı bir şekilde artırdı (Şekil 4.5A). En yüksek konsantrasyonda (5×10^{-6} M) G1, bazal perfüzyon basıncında yaklaşık 94 mmHg'lık bir artış oluşturdu. G1'in çözünürlük sorunundan dolayı, daha yüksek konsantrasyonlar test edilemedi. Diğer taraftan perfüzyon basıncı önceden fenilefrin ile artırıldığında ilginç olarak G1, vazodilatasyon oluşturmuştur (Şekil 4.5B)



Şekil 4.5 GPER1 agonisti G1 (10^{-7} , 3×10^{-7} , 10^{-6} , 3×10^{-6} , 5×10^{-6} M)'in erkek sıçanların böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkisi. A. Basal perfüzyon basıncı üzerine G1'in etkisi (n=9). G1, bazal şartlarda vazokonstriksiyon oluşturmuştur. B. Fenilefrin (5×10^{-7} M) ile perfüzyon basıncı artırılmış böbrek damar yatağı üzerine G1'in etkisi (n=5). İlginç olarak, G1 vazokonstriksiyonun hakim olduğu şartlarda vazodilatasyon yapmıştır. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve bunu takiben post hoc test olarak Bonferroni testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi.

4.6 Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağı Perfüzyon Basıncı Üzerine ER α ve ER β Antagonisti, GPER1 Agonisti ICI 182780'nin Etkisi

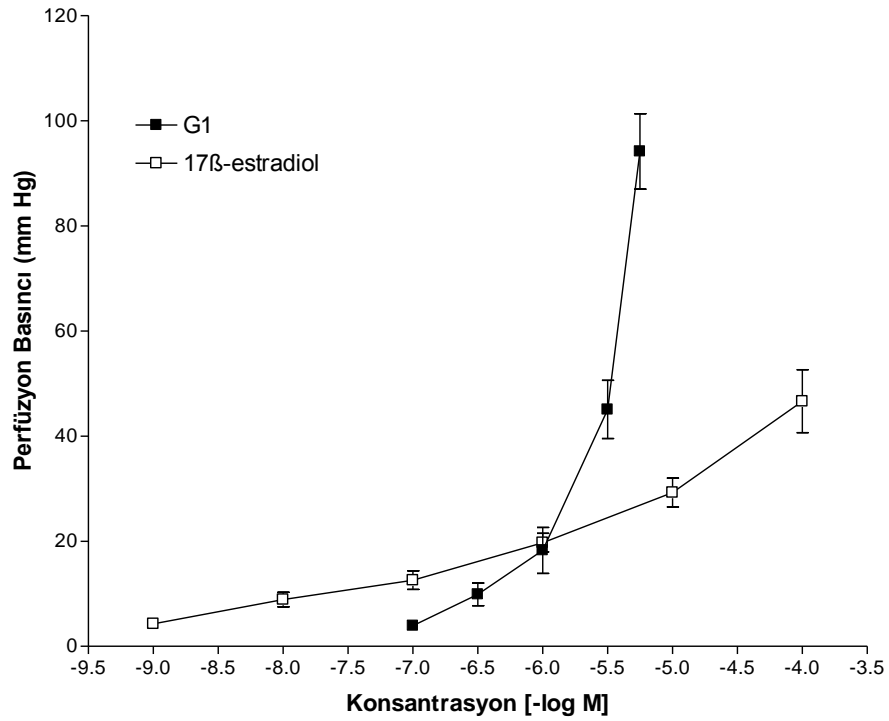
Artan konsantrasyonda (10^{-8} - 3×10^{-6} M) uygulanan ER α ve ER β antagonisti ve ayrıca GPER1 agonisti ICI 182780'nin, erkek sıçanlardan izole edilen böbreklerin bazal perfüzyon basıncını belirgin bir şekilde artırdı. En yüksek konsantrasyonda (3×10^{-6} M) ICI 182780, bazal perfüzyon basıncında yaklaşık 123 mmHg'lık bir artış oluşturdu (Şekil 4.6).



Şekil 4.6 ER α ve ER β antagonisti ve ayrıca GPER1 agonisti ICI 182780 (10^{-8} , 3×10^{-8} , 10^{-7} , 3×10^{-7} , 10^{-6} , 3×10^{-6} M)'in erkek sıçanların böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkisi (n=4). İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve bunu takiben post hoc test olarak Bonferroni testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi.

4.7 Erkek Sıçanlarda Böbrek Perfüzyon Basıncı Üzerine GPER1 Agonisti G1'in ve 17β-Estradiol'ün Etkilerinin Karşılaştırılması

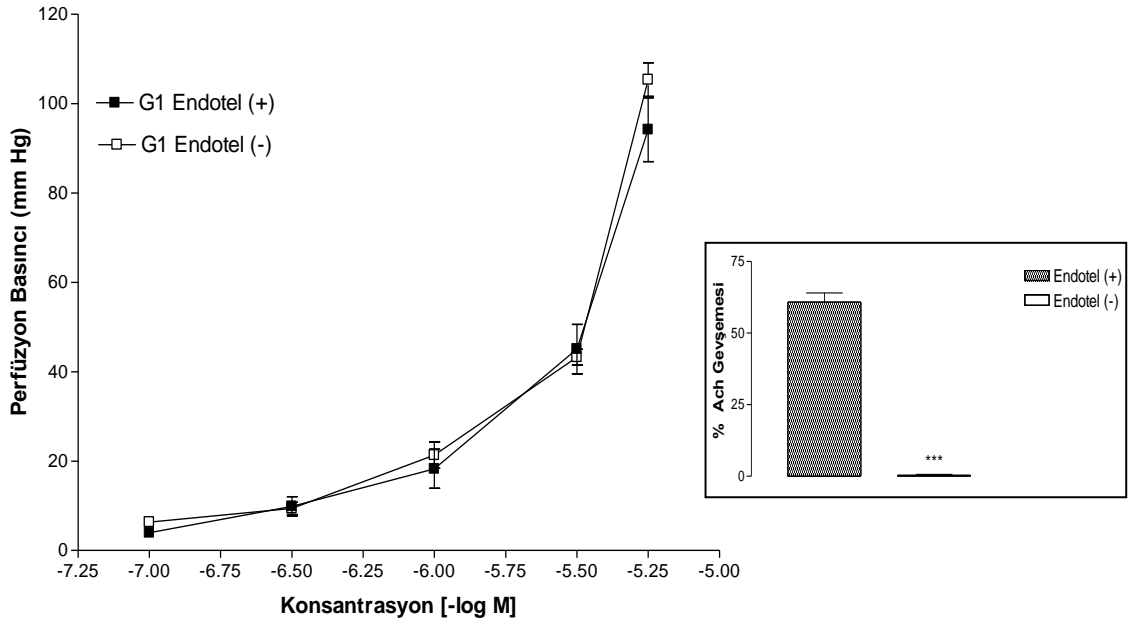
Erkek sıçanlarda böbrek perfüzyon basıncı üzerine GPER1 agonisti G1'in ve non selektif estrogen reseptör agonisti 17β-estradiol'ün etkileri karşılaştırıldı. Böbrek perfüzyon basıncı üzerine G1, 17β-estradiole göre daha güçlü bir artış oluşturdu. Konsantrasyon / cevap eğrisi 17β-estradiole göre daha dikti. Özellikle 10^{-6} M'dan daha yüksek konsantrasyonlarda G1, perfüzyon basıncını 17β-estradiole göre belirgin bir şekilde yükseltti (Şekil 4.7).



Şekil 4.7 GPER1 agonisti G1 (10^{-7} , 3×10^{-7} , 10^{-6} , 3×10^{-6} , 5×10^{-6} M)'in ve 17β-Estradiol (10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} M)'ün erkek sıçanların böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkisi. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve bunu takiben post hoc test olarak Bonferroni testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi.

4.8 Endotelyum Uzaklaştırılmasının Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi

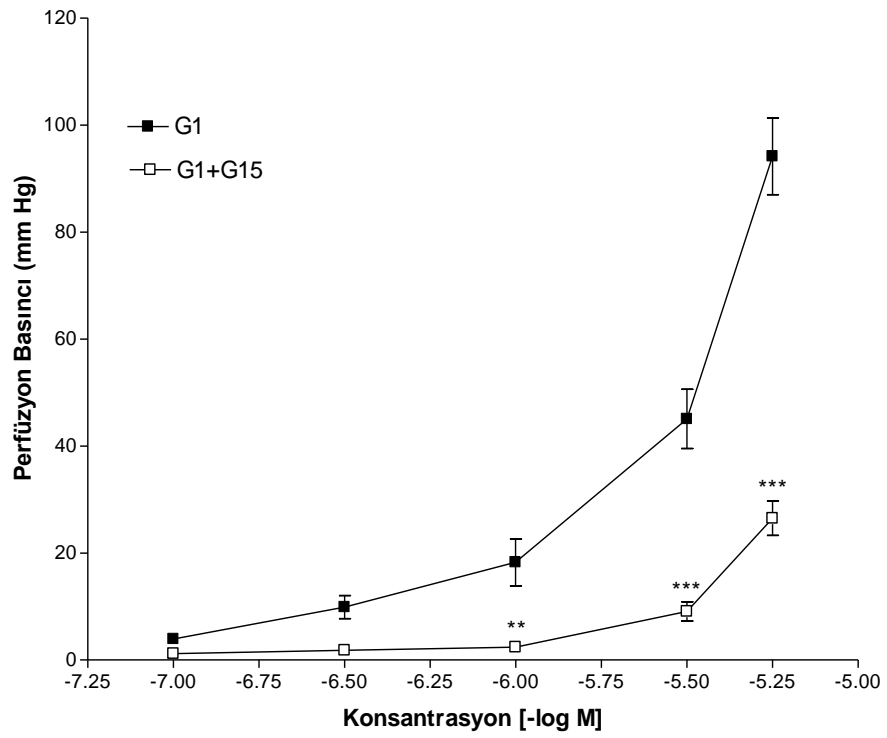
Saponin perfüzyonu ile endotelyumun uzaklaştırılması G1 ile oluşturulan vazokonstriksiyonu etkilemedi (Şekil 4.8). Diğer taraftan saponin 0.01 µg asetilkolin ile indüklenen vazodilatasyonu tamamen ortadan kaldırdı (iç şekil).



Şekil 4.8 Endotelyum uzaklaştırılmasının erkek sıçanların böbrek damar yatağında G1 (10^{-7} , 3×10^{-7} , 10^{-6} , 3×10^{-6} , 5×10^{-6} M) ile oluşturulan vasküler yanıtlara etkisi (n=6). İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve bunu takiben post hoc test olarak Bonferroni testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi.

4.9 GPER1 Antagonisti G15'in Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi

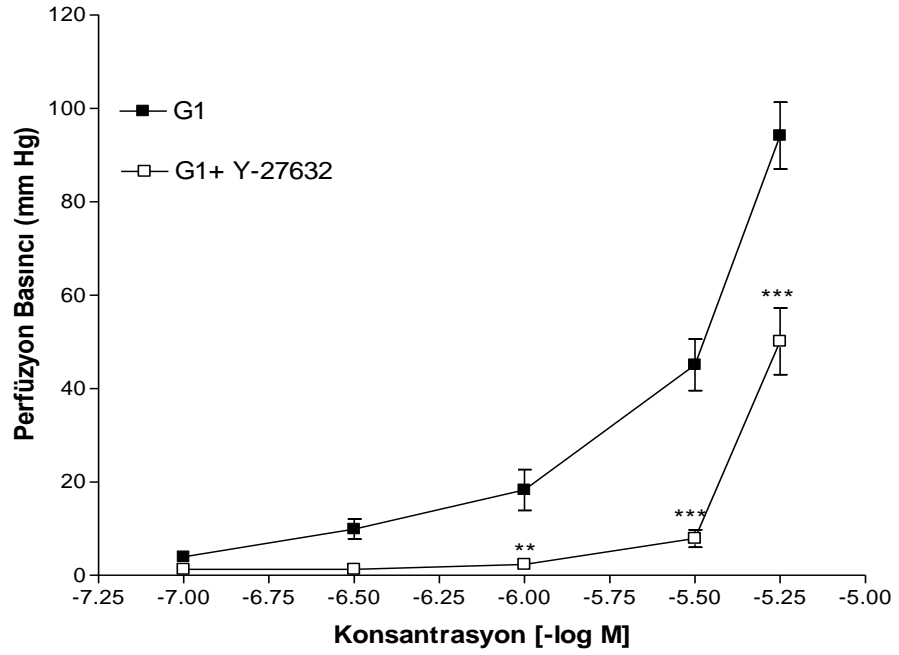
GPER1 reseptör blokörü G15, G1 ile oluşturulan perfüzyon basınç artışını anlamlı bir şekilde baskıladı (Şekil 4.9).



Şekil 4.9 GPER1 reseptör blokörü G15'in ön uygulamasının (10^{-6} M 45 dk) G1 ile oluşturulan vasküler yanıtlar üzerine etkisi (n=5). İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve bunu takiben post hoc test olarak Bonferroni testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi. **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$.

4.10 ROCK inhibitörü Y-27632'in Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi

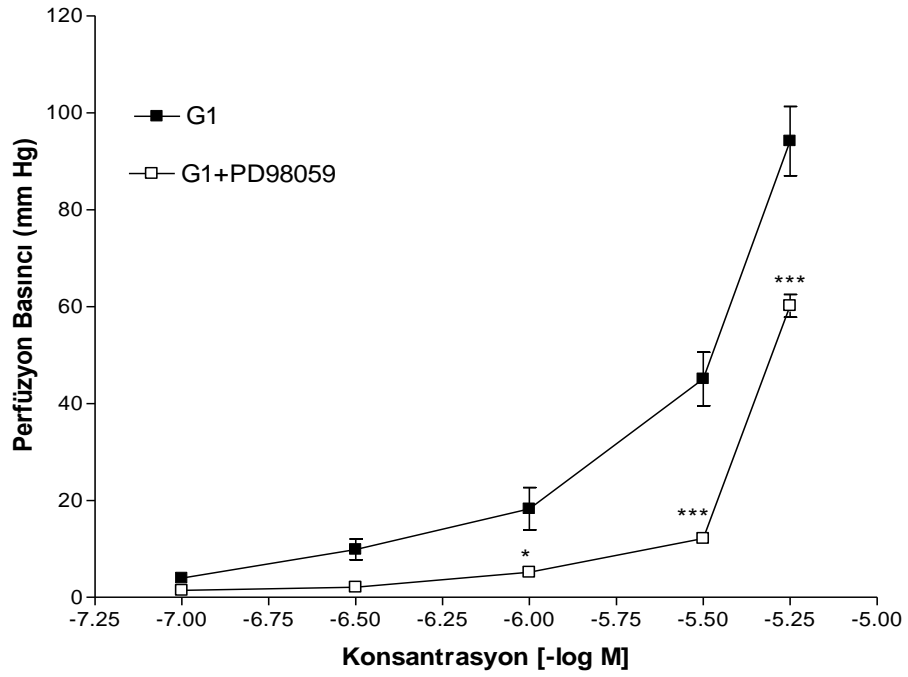
ROCK inhibitörü Y-27632, G1 ile oluşturulan perfüzyon basınç artışını anlamlı bir şekilde inhibe etti (Şekil 4.10).



Şekil 4.10 ROCK inhibitörü Y-27632'nin ön uygulamasının (5×10^{-6} M 45 dk) G1 ile oluşturulan vasküler yanıtlar üzerine etkisi (n=5). İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve bunu takiben post hoc test olarak Bonferroni testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi. **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$.

4.11 p42/44 MAPK İnhibitörü PD98059'ın Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi

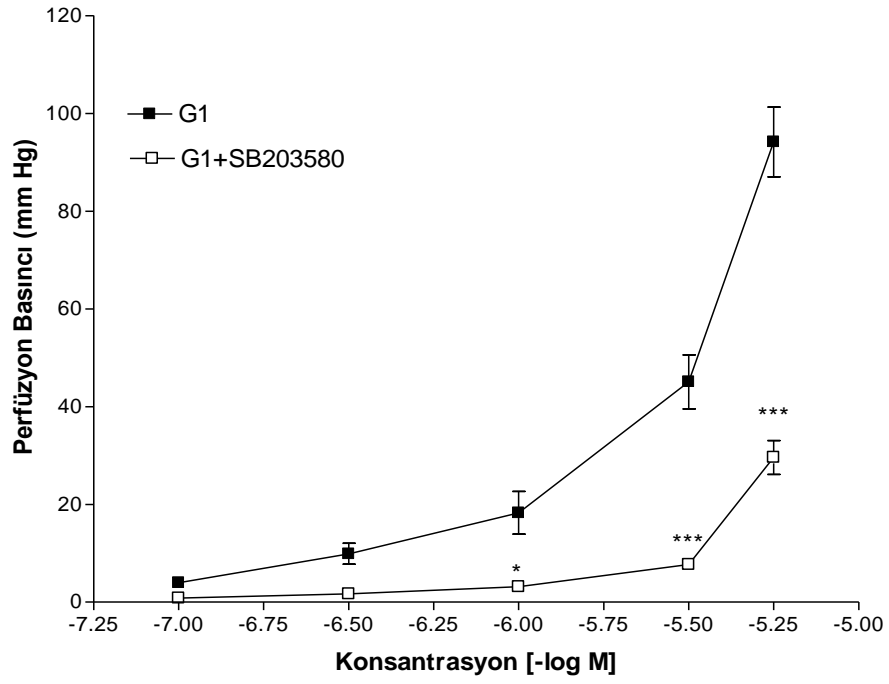
p42/44 MAPK inhibitörü PD98059, G1 ile oluşturulan perfüzyon basınç artışını anlamlı bir şekilde baskıladı (Şekil 4.11).



Şekil 4.11 p42/44 MAPK İnhibitörü PD98059'un ön uygulamasının (10^{-6} M 45 dk) G1 ile oluşturulan vasküler yanıtlar üzerine etkisi (n=4). İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve bunu takiben post hoc test olarak Bonferroni testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi. *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$.

4.12 p38 MAPK inhibitörü SB 203580'in Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi

p38-MAPK inhibitörü SB 203580, G1 ile oluşturulan perfüzyon basınç artışını anlamlı bir şekilde baskıladı (Şekil 4.12).

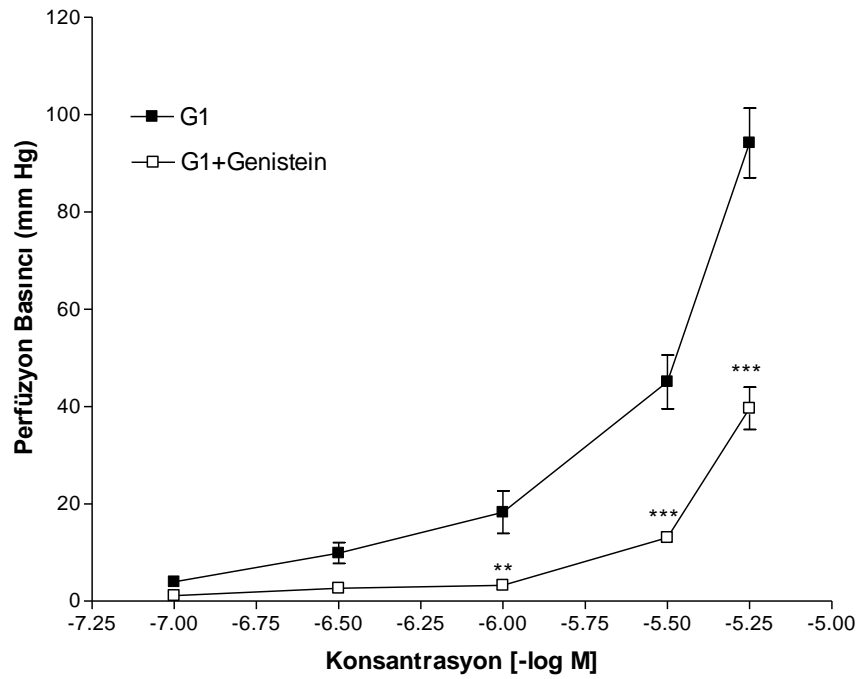


Şekil 4.12 p38 MAPK inhibitörü SB 203580'in ön uygulamasının (10^{-6} M 45 dk) G1 ile oluşturulan vasküler yanıtlar üzerine etkisi (n=4). İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve bunu takiben post hoc test olarak Bonferroni testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi.

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$.

4.13 Tirozin Kinaz İnhibitörü Genistein'in Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi

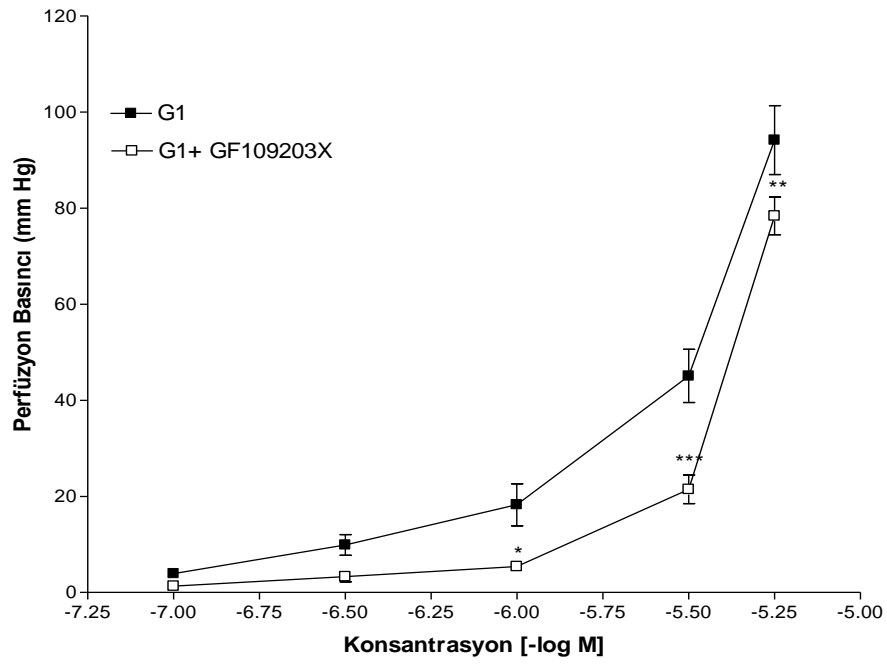
Tirozin kinaz inhibitörü genistein, G1 ile oluşturulan perfüzyon basınç artışını anlamlı bir şekilde inhibe etti (Şekil 4.13). Diğer inhibitörlerden farklı olarak genistein inkübasyonundan sonra bazal perfüzyon basıncı yaklaşık 13 mmHg arttı.



Şekil 4.13 Tirozin kinaz inhibitörü genistein'nin ön uygulamasının (10^{-6} M 45 dk) G1 ile oluşturulan vasküler yanıtlar üzerine etkisi (n=4). İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve bunu takiben post hoc test olarak Bonferroni testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi. **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$.

4.14 PKC İnhibitörü GF109203X'in Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi

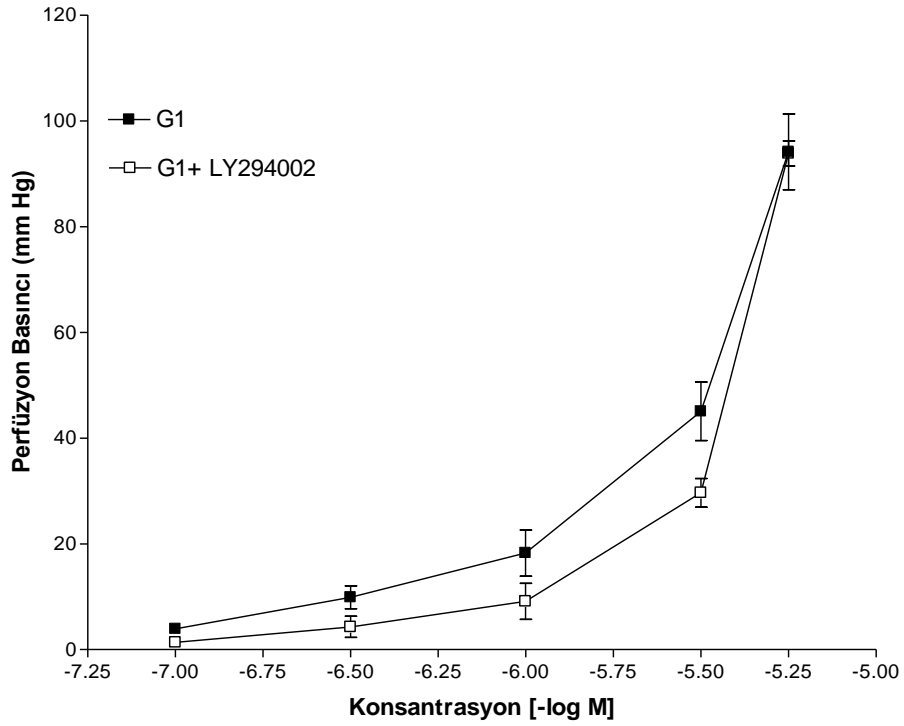
PKC inhibitörü GF109203X, G1 ile oluşturulan perfüzyon basınç artışını anlamlı bir şekilde baskıladı (Şekil 4.14).



Şekil 4.14 PKC inhibitörü GF109203X'in ön uygulamasının (3×10^{-6} M 45 dk) G1 ile oluşturulan vasküler yanıtlar üzerine etkisi (n=4). İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve bunu takiben post hoc test olarak Bonferroni testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi. *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$.

4.15 PI3K İnhibitörü LY294002'in Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi

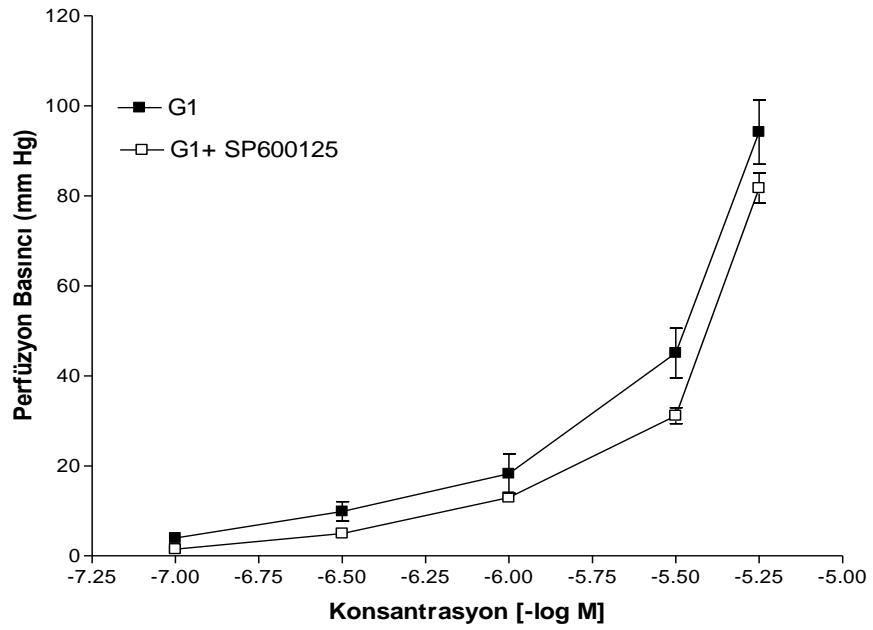
PI3K inhibitörü LY294002, G1 ile oluşturulan perfüzyon basınç artışını etkilemedi (Şekil 4.15). LY294002'nin seçilen konsantrasyonu (5×10^{-6} M) literatürde PI3K enzimini etkili bir şekilde inhibe etmek için kullanılan konsantrasyondur.



Şekil 4.15 PI3K inhibitörü LY294002'nin ön uygulamasının (5×10^{-6} M 45 dk) G1 ile oluşturulan vasküler yanıtlar üzerine etkisi (n=4). İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve bunu takiben post hoc test olarak Bonferroni testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi.

4.16 JNK inhibitörü SP600125'in Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi

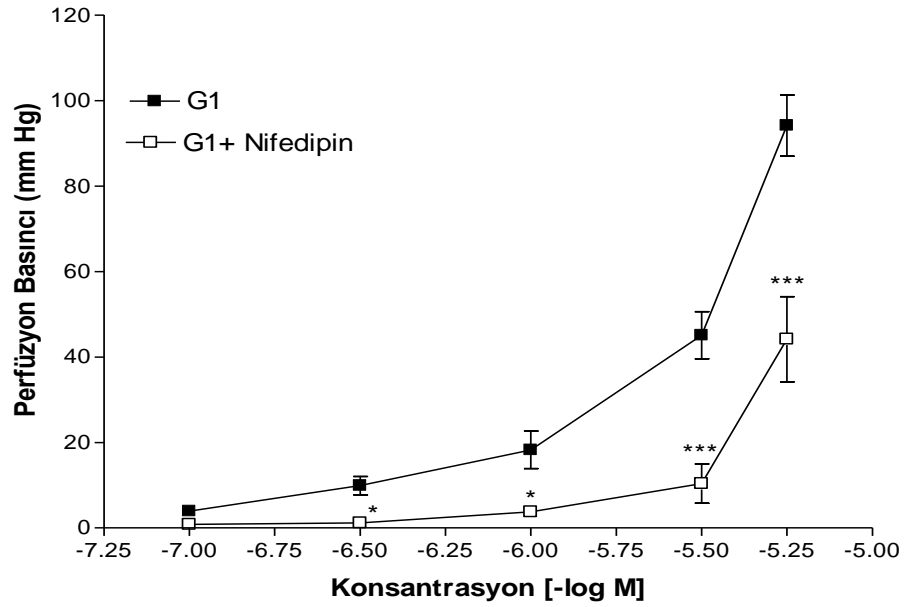
JNK inhibitörü SP600125, G1 ile oluşturulan perfüzyon basınç artışını etkilemedi (Şekil 4.16). LY294002'nin seçilen konsantrasyonu (5×10^{-6} M) literatürde JNK enzimini etkili bir şekilde inhibe etmek için kullanılan konsantrasyondur.



Şekil 4.16 JNK inhibitörü SP600125'in ön uygulamasının (5×10^{-6} M 45 dk) G1 ile oluşturulan vasküler yanıtlar üzerine etkisi (n=4). İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve bunu takiben post hoc test olarak Bonferroni testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi.

4.17 Kalsiyum Kanal Blokörü Nifedipin'in Erkek Sıçanların Böbrek Damar Yatağında G1 ile Oluşturulan Vasküler Yanıtlarına Etkisi

GPER1 reseptörlerinin kalsiyum kanalları ile ilişkili olabileceği bildirildiği için G1 ile oluşturulan vazokonstriksiyonda nifedipinin etkisini test ettik. Nifedipin, G1 ile indüklenen vasküler yanıtları dramatik bir şekilde inhibe etti (Şekil 4.17).

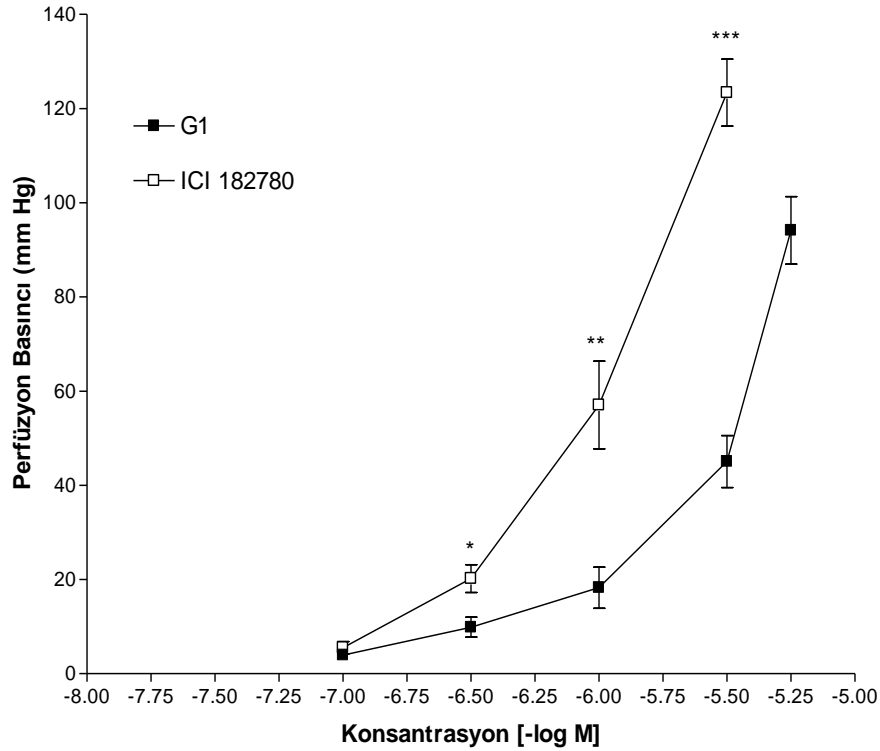


Şekil 4.17 Kalsiyum kanal blokörü nifedipin'in ön uygulamasının (10^{-6} M 45 dk) G1 ile oluşturulan vasküler yanıtlar üzerine etkisi (n=4). İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve bunu takiben post hoc test olarak Bonferroni testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi.

*: $P < 0.05$,***: $P < 0.001$.

4.18 Erkek Sıçanlarda Böbrek Perfüzyon Basıncı Üzerine GPER1 Agonisti G1'in ve ICI 182780'nin Etkilerinin Karşılaştırılması

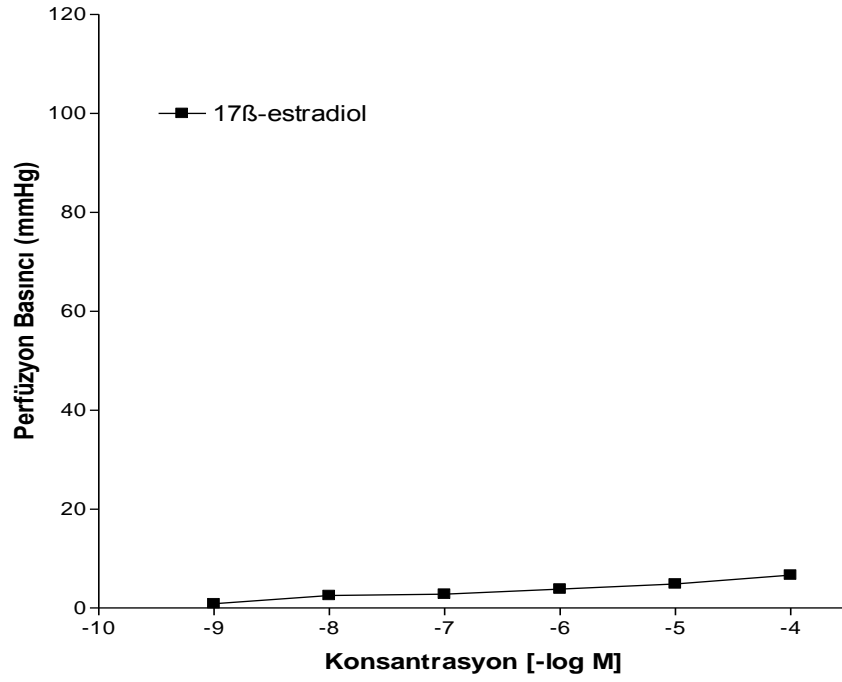
Selektif GPER1 agonisti olarak bilinen G1 ile klasik estrogen reseptör blokörü olan ve aynı zamanda GPER1 reseptörlerini de aktive ettiği bilinen ICI 182780'nin böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkileri karşılaştırıldı. İlginç olarak ICI 182780, G1'den daha belirgin vazokonstriksiyon oluşturdu (Şekil 4.18).



Şekil 4.18 Selektif GPER1 agonisti olarak bilinen G1 (10^{-7} , 3×10^{-7} , 10^{-6} , 3×10^{-6} , 5×10^{-6} M)'in ve klasik estrogen reseptör blokörü olan ve aynı zamanda GPER1 reseptörlerini de aktive ettiği bilinen ICI 182780 (10^{-8} , 3×10^{-8} , 10^{-7} , 3×10^{-7} , 10^{-6} , 3×10^{-6} M)'in erkek sıçanların böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkisi. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve bunu takiben post hoc test olarak Bonferroni testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi. *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$.

4.19 Dişi Sıçanların Böbrek Damar Yatağı Perfüzyon Basıncı Üzerine 17 β -Estradiol'ün Etkisi

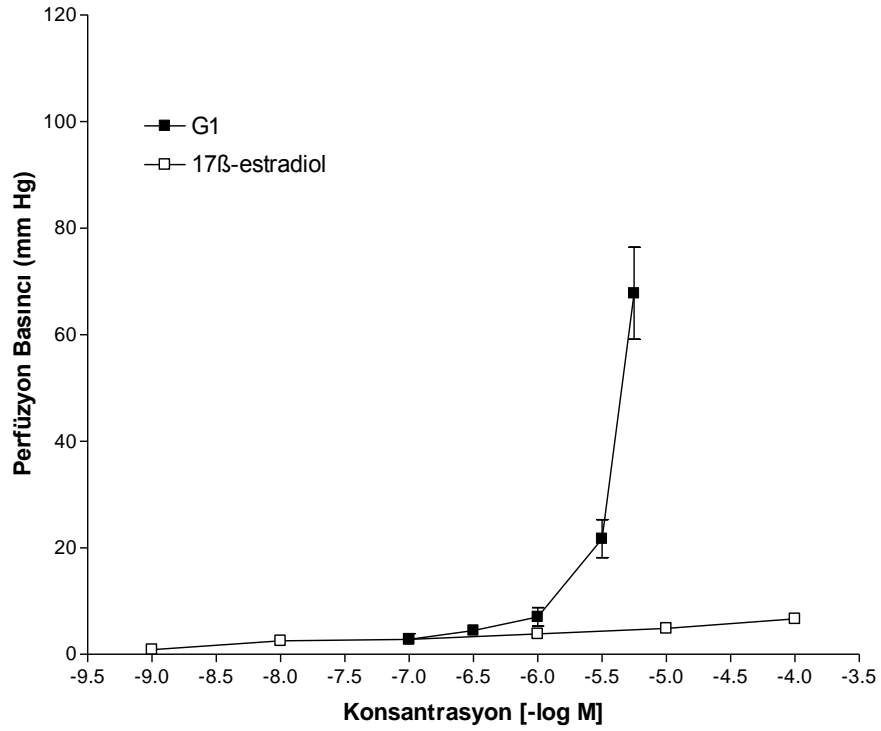
Artan konsantrasyonlarda (10^{-9} - 10^{-4} M) uygulanan 17 β -estradiol, izole dişi sıçan böbrek damar yatağı bazal perfüzyon basıncını etkilemedi (Şekil 4.19).



Şekil 4.19 17 β -Estradiol (10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} M)'ün dişi sıçanların böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkisi (n=4). İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve bunu takiben post hoc test olarak Bonferroni testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi.

4.20 Dişi Sıçanlarda Böbrek Perfüzyon Basıncı Üzerine GPER1 Agonisti G1'in ve 17β-Estradiol'ün Etkilerinin Karşılaştırılması

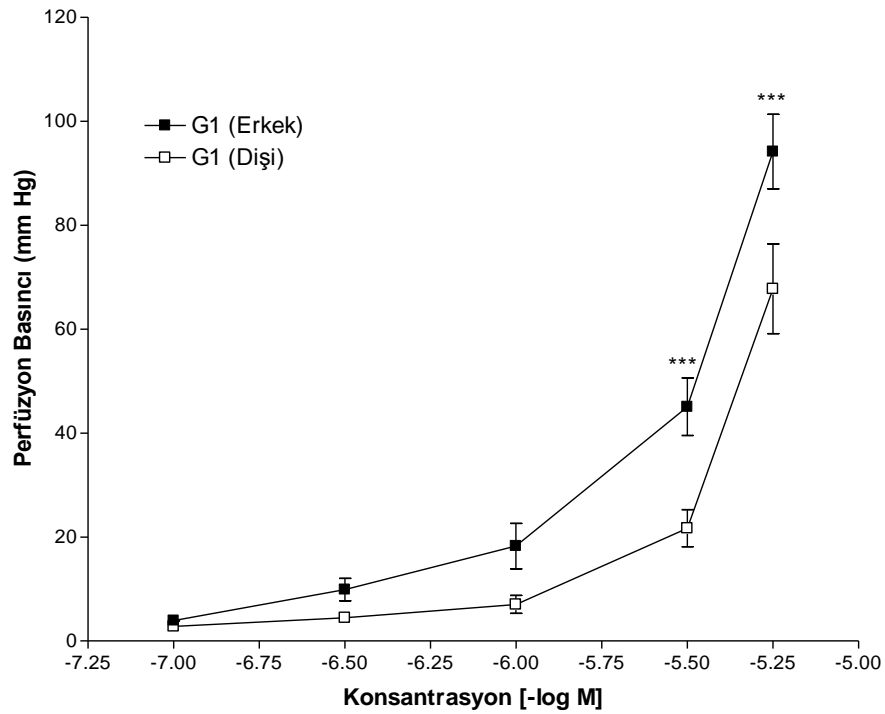
Dişi sıçanlarda böbrek perfüzyon basıncı üzerine GPER1 agonisti G1'in ve 17β-estradiol'ün etkileri karşılaştırıldı. G1, 17β-estradiolün aksine dişi sıçanların böbrek perfüzyon basıncını belirgin bir şekilde artırdı (Şekil 4.20).



Şekil 4.20 GPER1 agonisti G1 (10^{-7} , 3×10^{-7} , 10^{-6} , 3×10^{-6} , 5×10^{-6} M)'in ve 17β-Estradiol (10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} M)'ün dişi sıçanların böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkisi. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve bunu takiben post hoc test olarak Bonferroni testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi.

4.21 Erkek ve Dişi Sıçanlarda Böbrek Perfüzyon Basıncı Üzerine GPER1 Agonisti G1'in Etkilerinin Karşılaştırılması

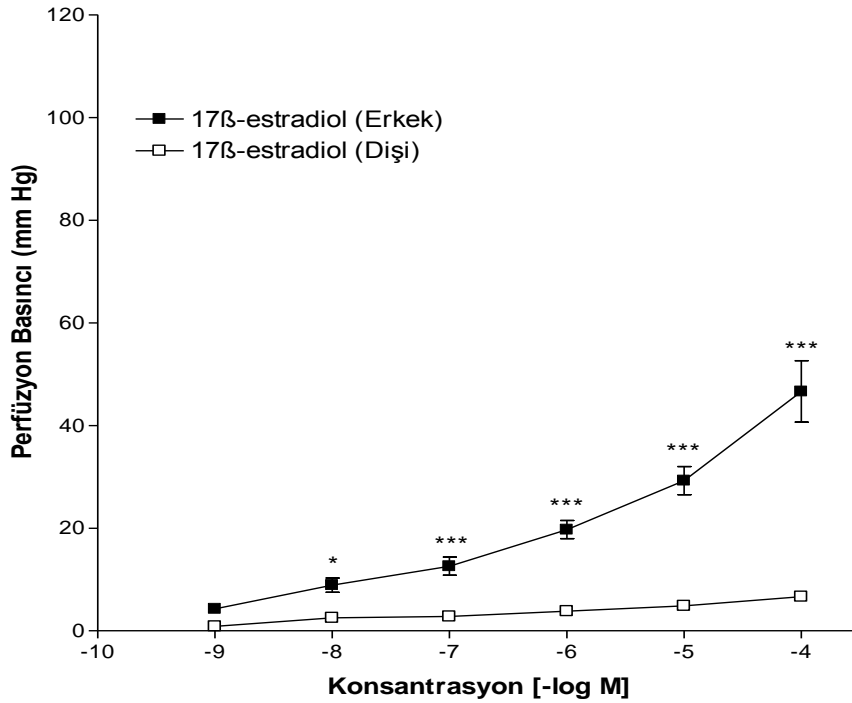
Erkek ve dişi sıçanlarda böbrek perfüzyon basıncı üzerine GPER1 agonisti G1'in etkileri karşılaştırıldı. Şekil 4.21'de görüldüğü gibi G1, erkek sıçanlarda elde edilen böbreklerin perfüzyon basıncını dişilerden elde edilenlere göre daha fazla artırdı. Kullanılan en yüksek konsantrasyonda (5×10^{-6} M) G1, erkek böbreğinde 94 ± 7 mmHg basınç artışı oluştururken, dişi böbreğinde 68 ± 8 mmHg basınç artışı oluşturdu.



Şekil 4.21 GPER1 agonisti G1 (10^{-7} , 3×10^{-7} , 10^{-6} , 3×10^{-6} , 5×10^{-6} M)'in erkek ve dişi sıçanların böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkisi. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve bunu takiben post hoc test olarak Bonferroni testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi. ***: $P < 0.001$.

4.22 Erkek ve Dişi Sıçanlarda Böbrek Perfüzyon Basıncı Üzerine 17 β -Estradiol'ün Etkilerinin Karşılaştırılması

Erkek ve dişi sıçanlarda böbrek perfüzyon basıncı üzerine 17 β -estradiolün etkileri karşılaştırıldı. Şekil 4.22'de görüldüğü gibi 17 β -estradiol, erkek sıçanlarda elde edilen böbreklerin perfüzyon basıncını dişilerden elde edilenlere göre daha fazla artırdı. Kullanılan en yüksek konsantrasyonda (10^{-4} M) 17 β -estradiol, erkek böbreğinde 47 ± 6 mmHg basınç artışı oluştururken, dişi böbreğinde 7 ± 1 mmHg basınç artışı oluşturdu ($P < 0.001$).



Şekil 4.22 17 β -Estradiol (10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} M)'ün erkek ve dişi sıçanların böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkisi. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve bunu takiben post hoc test olarak Bonferroni testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi. *: $P < 0.05$, ***: $P < 0.001$.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmanın en önemli bulguları: 1) G proteini ile kenetli estrogen reseptör 1 (GPER1) agonisti olan G1'in izole perfüze sıçan böbrek damar yatağı perfüzyon basıncını artırması 2) G1'in etkinliğinin dişi ve erkek sıçanlarda farklı olması 3) Ana estrogenik hormon olan 17 β -estradiolün dişilerden değil fakat erkek sıçanlardan elde edilen böbreklerde perfüzyon basıncını yükseltmesi 4) Klasik estrogen reseptör (ER α ve ER β) blokörü olan ve aynı zamanda GPER1 reseptörleri de aktive ettiği bildirilen ICI 182780'nin böbrek perfüzyon basıncını belirgin olarak artırması 5) Klasik estrogen reseptör agonistleri olan PPT ve DPN'nin böbrek perfüzyon basıncını etkilememesi 6) G1 ile oluşturulan vazoaaktivitenin PI3K ve JNK değil fakat ROCK, PKC, p42/44 MAPK, p38 MAPK, tirozin kinaz ve kalsiyum kanalları gibi pek çok sinyallerle ilişkili olması 7) Son olarak böbrek dokusunun hem arterinde hem de medulla ve korteksinde GPER1 ekspresyonunun gösterilmesidir.

Bizim bulgularımıza zıt olarak GPER1 agonisti G1'in mezenterik (26), karotid (27), koroner arter (28) ve aortada (29) vazodilatör etki yaptığı gösterilmiştir. G1'e farklı cevapların alınmış olması doku, cinsiyet ve deney şartlarının farklılığına bağlı olabilir. G1'in vazokonstriktör yanıtları GPER1 spesifik gibi görünmektedir çünkü GPER1 blokörü G15, G1'in meydana getirdiği vazokonstriktör yanıtları anlamlı olarak inhibe etti. Broughton ve ark. sıçan karotid arterinin endotel tabakasının saponin ile uzaklaştırılmasının G1'e bağlı vazodilatasyon cevaplarını ortadan kaldırdığını göstermişlerdir (27). Ancak bizim çalışmamızda böbrek perfüzyon yatağındaki endotel tabakasının saponin ile uzaklaştırılması, G1 ile oluşturulan vazokonstriksiyon cevaplarını değiştirmedir.

Diğer taraftan sırasıyla ER α ve ER β olarak bilinen PPT ve DPN bu çalışmada böbrek damar yatağı bazal perfüzyon basıncı üzerine herhangi bir etki yapmamıştır. Bu bulgular, söz konusu klasik estrogen reseptörlerinin perfüzyon basıncının kontrolünde rol oynamadıklarını göstermektedir. Ancak ön kastırılmış domuz koroner arterlerinde her iki ajanın da endoteliuma bağımlı bir şekilde vazodilatasyon yaptıkları bildirilmiştir (97).

Bu bulgular ER α ve ER β reseptörlerinin sıçan böbrek perfüzyon basıncının estrojen ile olan düzenlenmesinde katkı sağlamadığını gösterebilir.

Yakın zamana kadar, estrojenlerin vasküler etkisine sadece klasik estrojen reseptörlerinin (ER α ve ER β) aracılık ettiği bilinmekteydi. İlginç olarak ER α ve ER β blokajı veya bu reseptörlerin ortadan kaldırılması, kardiyovasküler sistemde estrojen cevaplarını ortadan kaldırmamıştır (98,99). Bu durum, estrojenin bilinen reseptörleri dışında farklı bir reseptörünün kardiyovasküler sistemde etkili olabileceğini düşündürülebilir. Son birkaç yıl içinde yapılan çalışmalar G proteini ile kenetli reseptör-1 (GPER1 veya GPR30) varlığını göstermiştir (21). Estrojen bu reseptör aracılığıyla transkripsiyon ve protein sentezi olmadan hızlı non-genomik etkiler oluşturur (100,101). Ancak sıçan koroner vasküler endotel hücre kültürlerinde yaptığımız bir çalışmada GPER1 reseptörlerinin genom düzeyinde gen transkripsiyonu yaparak ROCK-2 enzim up-regülasyonuna neden olduğunu gösterdik (Yayınlanmamış veri). GPER1'in oluşturduğu etkilere genellikle enzimatik yollar ve iyon kanalları aracılık edebilir. Bundan dolayı bu çalışmada biz kalsiyum kanalları ve protein kinazlar üzerine etkili farmakolojik ajanlar kullandık. G1'in oluşturduğu perfüzyon basıncı artışını Rho-kinaz inhibitörü (Y-27632), p42/44 MAPK inhibitörü (PD 98059), p38 MAPK inhibitörü (SB 203580), protein kinaz C inhibitörü (GF 109203X) ve tirozin kinaz inhibitörü (genistein) inhibe etti ancak jun-kinaz inhibitörü (SP 600125) ve PI3K inhibitörü (LY 294002), G1'in oluşturduğu perfüzyon artışını etkilemedi. Bu sonuçlar, GPER1 sinyal yolağının Rho-kinaz, p42/44 MAPK, p38 MAPK, protein kinaz C, tirozin kinaz gibi enzimlerle ilişkili olabileceğini gösterir. G1'in non-genomik etkilerine enzim ve iyon kanallarının aracılık ettiğini gösteren çalışmalarla (102) bizim sonuçlarımız uyumlu görülmektedir. G1'in oluşturduğu perfüzyon basıncı artışını kalsiyum kanal blokörü nifedipinin inhibe ettiğini gözledik. Nilsson ve ark. yaptığı çalışmada agonist stimülasyonu sonrası meydana gelen sitozolik Ca²⁺ konsantrasyonundaki artışın GPER aracılı meydana geldiğini göstermişlerdir (103). Sitozolik Ca²⁺ konsantrasyonundaki artış, PKC aracılı değil ama epidermal büyüme faktör reseptörü aktivasyonu aracılığıyla görülmektedir (65). Ancak bizim çalışmamızda G1'in oluşturduğu perfüzyon basıncı artışını protein kinaz C inhibitörü, GF109203X inhibe etti ve bundan dolayı G1'in oluşturduğu perfüzyon basıncına artışı protein kinaz C aracılık edebilir.

Estrojenin özellikle nitrik oksit üretiminin ve salgılanmasının artmasına yol açarak vazodilatasyona neden olduğu kabul edilmektedir (104-107). Estrojen, aynı zamanda damar düz kas hücre proliferasyonu ve inflamasyonunu inhibe eder (107) ve kolesterol seviyelerini düşürerek aterosklerotik lezyonları azaltır (108,109). Vacca ve ark. yaptıkları çalışmalarında akut intravenöz 17 β -estradiol uygulamasının dişi domuzlarda böbrek, mezenterik, iliyak ve koroner arter kan akımında artışa neden olduğu gösterilmiştir (110). Ayrıca, in vivo çalışmalarda normotansif ve hipertansif sıçanlarda G1'in akut intravenöz enjeksiyonunun ortalama arter basıncını azalttığı gösterilmiştir (27,28). Sonuç olarak, GPER aktivasyonu kardiyovasküler sistemi koruyucu olarak kabul edilmektedir (85). Ancak bu çalışmamızda 17 β -estradiol ve GPER agonistleri G1 ve ICI 182780, böbrek perfüzyon basıncını arttırdı. Bu farklı etki cinsiyet, tür ve deney şartlarının farklılığına bağlı olabilir. Erkek ve dişi sıçanlar arasında G1 ve 17 β -estradiol yanıtlarında anlamlı bir fark bulundu. Bu nedenle cinsiyet farklılığı, bu sonuçları açıklayabilir. Ayrıca deneysel prosedür farklılığı başka bir neden olarak kabul edilebilir. Örneğin, G1 ve 17 β -estradiol uygulanarak vazodilatasyon gösterilmiş çalışmaların pek çoğunda dişi hayvanlar kullanılmıştır (81). Ayrıca birçok çalışmada asetilkolin gibi vazodilatör ajanların etkileri üzerine genellikle 17 β -estradiolün etkisi incelenmiştir. Bizim çalışmamızda doğrudan estrojenik ajanların dişi ve erkek sıçanların böbrek perfüzyon basıncı üzerine etkileri test edilmiştir. Öte yandan, biz deneylerde izole renal arter segmenti değil küçük resistans damarları da içeren böbreğin bütün damar yatağını kullandık ve bundan dolayı elde ettiğimiz sonuçlar farklı olabilir. G1'in oluşturduğu renal vazokonstriksiyonu açıklayabilmek için daha detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır. Örneğin, G1 etkisi altında muhtemel üretilen ve salgılanan endojen mediatörlerin bilinmesi gerekmektedir. Estrojenik bileşikler olan 17 β -estradiol ve G1'in renal vazokonstriksiyon yapması estrojenlerin sodyum retansiyonuna neden olabileceği ile uyumlu görünmektedir. Lokal renin-anjiyotensin sisteminin özellikle de anjiyotensinin tübüler sodyum ve su emilimi, böbrek kan akımı ve glomerüler filtrasyon hızı gibi temel olaylarda etkinliği görünmektedir (111,112).

Son olarak, epidermal büyüme faktörü (EGFR) ile GPER1 arasındaki ilişki araştırıldığında, EGFR blokörü AG-1478 belirgin olarak G1 vazokonstriksiyonunu inhibe etmiştir. Olasılıkla GPER1 aktivasyonu matriks metaloproteinazları aktive ederek

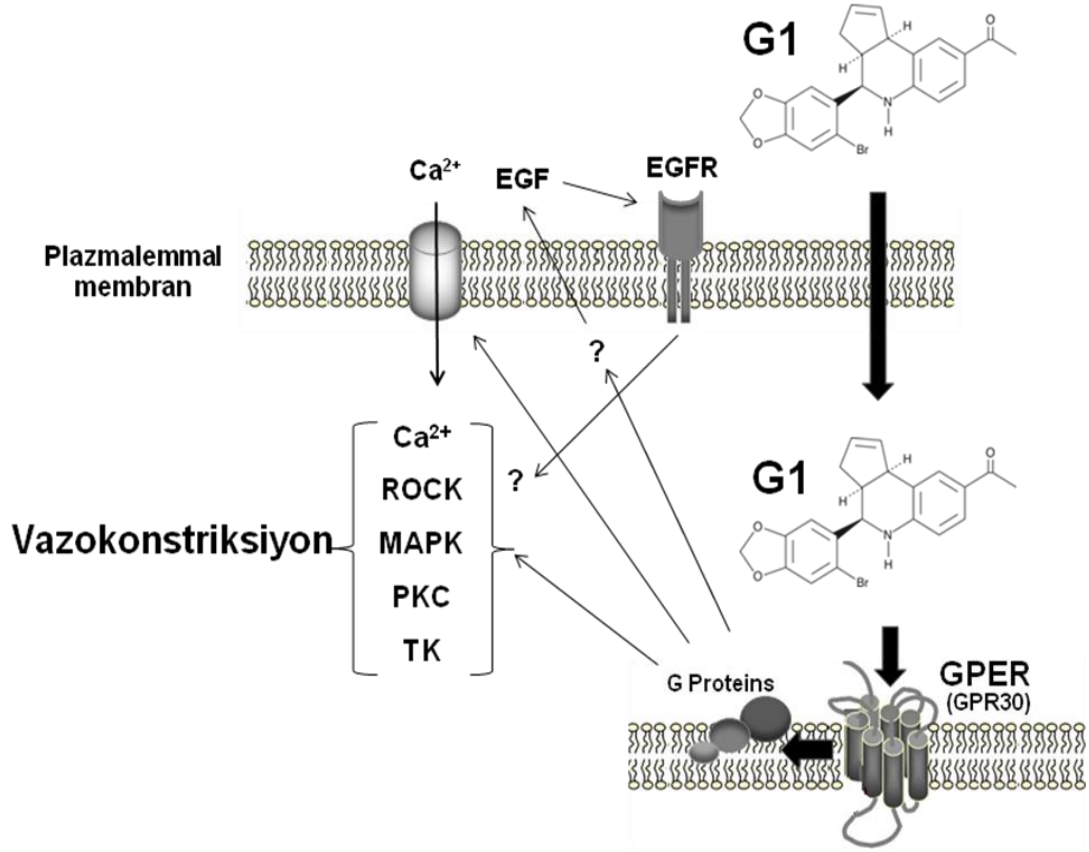
heparin bağlı EGF'nin (HB-EGF) ekstrasellüler boşluğa salıverilmesine ve dolayısıyla plazma membranındaki EGF reseptörlerine bağlanması neden olur. EGFR'nin aktivasyonu da ERK kaskadı üzerinden otokrin / parakrin etkileşmeye öncülük edebilir (113,114).

Diğer taraftan, perfüzyon basıncı bir vazokonstriktör ajanla (fenilefrin) artırılmış böbreklerde G1'in vazodilatasyon yapması, damar tonusunun, vazoaaktif ajanlara olan yanıtı değiştirebileceğini göstermektedir. Terapötik açıdan bakıldığında böyle bir dual etki oluşturan ajanların özellikle şok gibi durumlarda faydalı olabileceği görünmektedir. Böyle bir ajanın vazokonstriksiyonun hakim olduğu durumda vazodilatasyon, vazodilatasyonun hakim olduğu durumlarda ise vazokonstriksiyon yapması, kan basıncı ve doku perfüzyonunun etkili bir şekilde sağlanması olanak verebilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak G1, 17 β -estradiol ve ICI 182780 sıçanlarda böbrek bazal perfüzyon basıncını arttırdı. G1 ile oluşan vazokonstriksiyon GPER1 aktivasyonu aracılığıyla olmaktadır. Çünkü selektif GPER1 blokörü G15, G1 ile oluşturulan perfüzyon basıncındaki artışı inhibe etmiştir. G1'in meydana getirdiği vazokonstriksiyon kalsiyum kanalını, Rho-kinazı, p42/44 MAPK, p38 MAPK, protein kinaz C'i ve tirozin kinazı içerirken jun-kinaz ve PI3K'ı içermeyebilir (Şekil 6.1). Ayrıca, G1 perfüzyon basıncı önceden artırılmış böbreklerde ise vazodilatasyona neden olmaktadır.

Lokal faktörlerden özellikle, renin-anjiyotensin sistemi ve prostaglandinin rolü araştırılmak üzere kalmıştır. Ayrıca G1'in oluşturduğu renal vazokonstriksiyon dakikalar içinde meydana gelmektedir ve olasılıkla non-genomik bir etki olabilir. Hücre membranını geçemeyen G1 eğer elde edilebilirse kullanılması gerekir. Son olarak, G1, 17 β -estradiol ve ICI 182780'nin vazokonstriktör etkisi özellikle erkek böbreklerinde meydana gelmektedir. Yeni bir çalışma planlanarak, overektomi yapılmış dişi sıçanlarda estrojenik hormonların rolü araştırılabilir.



Şekil 6.1 G1 ile oluşan böbrek vazokonstriksiyonunun olası mekanizmaları. GPER reseptörü muhtemelen endoplazmik retikulum üzerinde bulunmakta ve G-proteini ile ilişkilidir. G-proteini aracılı sinyal yolu kalsiyum kanalını, Rho-kinazı, p42/44 MAPK, p38 MAPK, protein kinaz C'i ve tirozin kinazı içermektedir.

7. KAYNAKLAR

1. **Khaw KT, Barrett-Connor E.** Blood pressure and endogenous testosterone in men: an inverse relationship. *J Hypertens*, **1988**;6(4):329-332.
2. **Messerli FH, Garavaglia GE, Schmieder RE, Sundgaard-Riise K, Nunez BD, Amodeo C.** Disparate cardiovascular findings in men and women with essential hypertension. *Ann Intern Med*, **1987** ;107(2):158-161.
3. **Kublickiene K, Luksha L.** Gender And The Endothelium. *Pharmacological Rep*, **2008**;60:49-60.
4. **Rosano GM, Sarrel PM, Poole-Wilson PA, Collins P.** Beneficial effect of oestrogen on exercise-induced myocardial ischaemia in women with coronary artery disease. *Lancet*, **1993**;342:133-141.
5. **Koledova VV, Khalil RA.** Sex hormone replacement therapy and modulation of vascular function in cardiovascular disease. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, **2007**;5(4):777-789.
6. **Hulley S, Grady D, Bush T, Furberg C, Herrington D, Riggs B, Vittinghoff E.** Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. *Heart and Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group JAMA*, **1998**;280(7):605-613.
7. **Angerer P, Störk S, Kothny W, Schmitt P, von Schacky C.** Effect of oral postmenopausal hormone replacement on progression of atherosclerosis : a randomized, controlled trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **2001**;21(2):262-268.
8. **Ossama MR, Khalil RA.** Vascular effects of estrogenic menopausal hormone therapy. *Rev Rec Cli Trials*, **2012** (in press).
9. **Duckles SP, Miller VM.** Hormonal modulation of endothelial NO production. *Pflugers Arch*, **2010**;459:841-851.
10. **Pare G, Krust A, Karas RH, Dupont S, Aronovitz M, Chambon P, Mendelsohn ME.** Estrogen receptor-alpha mediates the protective effects of estrogen against vascular injury. *Circ Res*, **2002**;90:1087-1092.
11. **Rodriguez E, Lopez R, Paez A, Masso F, Montano LF.** 17Beta-estradiol inhibits the adhesion of leukocytes in TNF-alpha stimulated human endothelial cells by blocking IL-8 and MCP-1 secretion, but not its transcription. *Life Sci*, **2002**;71:2181-2193.
12. **Bourassa PA, Milos PM, Gaynor BJ, Breslow JL, Aiello RJ.** Estrogen reduces atherosclerotic lesion development in apolipoprotein E-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **1996**;93:10022-10027.
13. **White RE.** Estrogen and vascular function. *Vascul Pharmacol*, **2002**;38:73-80.

14. **Hees RA.** Estrogen in the adult male reproductive tract: a review. *Reprod Biol Endocrinol* , 2003;1:52.
15. **Luksha L, Kublickiene K.** The role of estrogen receptor subtypes for vascular maintenance. *Gynecol Endocrinol*, 2009;25:82–95.
16. **Ullrich ND, Krust A, Collins P, MacLeod KT.** Genomic deletion of estrogen receptors ER α and ER β does not alter estrogen-mediated inhibition of Ca² influx and contraction in murine cardiomyocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2008;294:2421–2427.
17. **Prossnitz ER, Arterburn JB, Smith HO, Oprea TI, Sklar LA, Hathaway HJ.** Estrogen signaling through the transmembrane G protein-coupled receptor GPR30. *Annu Rev Physiol*, 2008;70:165–190.
18. **Owman C, Blay P, Nilsson C, Lolait SJ.** Cloning of human cDNA encoding a novel heptahelix receptor expressed in Burkitt's lymphoma and widely distributed in brain and peripheral tissues. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996;228:285-292.
19. **Haas E, Meyer MR, Schurr U, Bhattacharya I, Minotti R, Nguyen HH, Heigl A, Lachat M, Genoni M, Barton M.** Differential effects of 17 β -estradiol on function and expression of estrogen receptor alpha, estrogen receptor beta, and GPR30 in arteries and veins of patients with atherosclerosis. *Hypertension*, 2007;49:1358–1363.
20. **Owman C, Blay P, Nilsson C, Lolait SJ.** Cloning of human cDNA encoding a novel heptahelix receptor expressed in Burkitt's lymphoma and widely distributed in brain and peripheral tissues. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996;228 :285-292.
21. **Carmeci C, Thompson DA, Ring HZ, Francke U, Weigel RJ.** Identification of a gene (GPR30) with homology to the G-protein-coupled receptor superfamily associated with estrogen receptor expression in breast cancer. *Genomics*, 1997; 45:607-617.
22. **Filardo EJ, Graeber CT, Quinn JA, Resnick MB, Giri D, Delellis RA, Steinhoff MM, Sabo E.** Distribution of GPR30, a Seven Membrane-Spanning Estrogen Receptor, in Primary Breast Cancer and its Association with Clinicopathologic Determinants of Tumor Progression. *Clin Cancer Res*, 2006;12:6359-6366.
23. **Heino TJ, Chagin AS, Savendahl L.** The novel estrogen receptor G-protein-coupled receptor 30 is expressed in human bone. *J Endocrinol*, 2008;197:1-6.
24. **O'Dowd BF, Nguyen T, Marchese A, Cheng R, Lynch KR, Heng HH, Kolakowski LF Jr, George SR.** Discovery of three novel G-protein-coupled receptor genes. *Genomics*, 1998;47:310-313.
25. **Smith HO, Leslie KK, Singh M, Qualls CR, Revankar CM, Joste NE, Prossnitz ER.** GPR30: a novel indicator of poor survival for endometrial carcinoma. *Am J Obstet Gynecol*, 2007;196:381-389.
26. **Lindsey SH, Cohen JA, Brosnihan KB, Gallagher PE, Chappell MC.** Chronic treatment with

the G protein-coupled receptor 30 agonist G-1 decreases blood pressure in ovariectomized mRen2. Lewis rats. *Endocrinology*, **2009**;150:3753–3758

27. Broughton BR, Miller AA, Sobey CG. Endothelium-dependent relaxation by G protein-coupled receptor 30 agonists in rat carotid arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **2010**;298(3):1055-1061.

28. Meyer MR, Baretella O, Prossnitz ER, Barton M. Dilation of epicardial coronary arteries by the G protein-coupled estrogen receptor agonists G-1 and ICI 182,780. *Pharmacology*, **2010**;86(1):58-64.

29. Haas E, Bhattacharya I, Brailoiu E, Damjanovic M, Brailoiu GC, Gao X, Mueller-Guerre L, Marjon NA, Gut A, Minotti R, Meyer MR, Amann K, Ammann E, Perez-Dominguez A, Genoni M, Clegg DJ, Dun NJ, Resta TC, Prossnitz ER, Barton M. Regulatory role of G protein-coupled estrogen receptor for vascular function and obesity. *Circ Res*, **2009**;104:288-291.

30. Nidess R, Koch WE, Fried FA, McFarland E, Mandell J. Development of the embryonic murine kidney in normal and congenital polycystic kidney disease: characterization of a proximal tubular degenerative process as the first observable light microscopic defect. *J Urol*, **1984**;131:156–162.

31. Saxen L, Sariola H, Lehtonen E. Sequential cell and tissue interactions governing organogenesis of the kidney. *Anat Embryol*, **1986**;175:1–6.

32. Patrick CW, Alan BR, Daracott VE, Alan JW. Renal Disgenezi ve Böbreğin Kistik Hastalığı. Cambell Üroloji Pediatrik. Glassberd K: Sekizinci baskı **2005**: 1927–1931.

33. Sadler TW. *Ürogenital Sistem Emriyolojisi*. Langman’s Medikal Embrioloji. 7. Baskı, Ankara: Palme Yayıncılık, **1995**: 260–271.

34. Orhan Kuran. *Ürogenital Sistem Anatomisi*. Sistematik Anatomi. 1. Baskı, İstanbul: İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, **1976**: 489-499.

35. Richard S. *Ürogenital Sistem Anatomisi*. Klinik Anatomi. Beşinci Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, **1997**: 224-226.

36. Bulger RE, Dobyen DC. Recent advances in renal morphology. *Annu Rev Physiol*, **1982**;44: 147-179.

37. L. Carlos Junquera, Jose Carnerio, Robert Kelley. *Ürogenital Sistem Histolojisi*. Temel Histoloji. Sekizinci Baskı, Ankara: Barış Kitapevi, **1998**: 359–375.

38. Maunsbach AB, Olsen TS, Christensen EL: Functional Ultrastructure of the Kidney. Acedemic Pres, **1981**.

39. William F, Ganong. Boşaltım Sistemi Fizyolojisi. Tıbbi Fizyoloji Cilt II: Onyedinci baskı **1996**: 857-896.

40. **Zeidel ML.** Hormonal regulation of inner medullary collecting duct sodium transport. *Am J Physiol*, **1993**;265:159–173.
41. **Johns EJ.** The autonomic nervous system and pressure-natriuresis in cardiovascular-renal interactions in response to salt. *Clin Auton Res*, **2002**;12:256-263.
42. **Lohmeier TE, Lohmeier JR, Haque A, Hildebrandt DA.** Baroreflexes prevent neurally induced sodium retention in angiotensin hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, **2000**;279:1437-1448.
43. **Parsons KK, Coffman TM.** The renin-angiotensin system: it's all in your head. *J Clin Invest*, **2007**;117:873-876.
44. **Persson PB.** Renin: origin, secretion and synthesis. *J Physiol*, **2003**;552:667-671.
45. **Antunes-Rodrigues J, de Castro M, Elias LL, Valenca MM, McCann SM.** Neuroendocrine control of body fluid metabolism. *Physiol Rev*, **2004**;84:169-208.
46. **Guyton AC, Hall JE.** Textbook of Medical Physiology. 11th ed. Pennsylvania: Elsevier Saunders, **2006**:205-231.
47. **DiBona GF.** Sympathetic nervous system and the kidney in hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens* **2002**;11:197-200.
48. **Crowley SD, Gurley SB, Herrera MJ, Ruiz P, Griffiths R, Kumar AP, Kim HS, Smithies O, Le TH, Coffman TM.** Angiotensin II causes hypertension and cardiac hypertrophy through its receptors in the kidney. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2006**;103:17985-17990.
49. **Wagenaar LJ, Voors AA, Buikema H, van Gilst WH.** Angiotensin receptors in the cardiovascular system. *Can J Cardiol* **2002**;18:1331-1339.
50. **Su DF, Miao CY.** Arterial baroreflex function in conscious rats. *Acta Pharmacol Sin*, **2002**;23:673-679.
51. **Morgan T.** Interactions between sodium and angiotensin. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, **2001**;28:1070-1073.
52. **Veerasingham SJ, Raizada MK.** Brain renin-angiotensin system dysfunction in hypertension: recent advances and perspectives. *Br J Pharmacol*, **2003**;139:191-202.
53. **Haller H, Park JK, Lindschau C, Meyer M, Menne J.** Spotlight on renin: intrarenal renin-angiotensin in cardiovascular and renal regulation. *Endocr Rev*, **2003**;24:261-271.
54. **Zhuo JL, Li XC.** Novel roles of intracrine angiotensin II and signalling mechanisms in kidney

cells. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*, **2007**;8:23-33.

55. Rector FC Jr. Sodium, bicarbonate, and chloride absorption by the proximal tubule. *Am J Physiol*, **1983**;244:461-471.

56. Schafer JA, Robert F, Pitts Memorial Lecture. Mechanisms coupling the absorption of solutes and water in the proximal nephron. *Kidney Int*, **1984**;25:708-716.

57. Madsen KM, Tisher CC. Structural-functional relationship along the distal nephron. *Am J Physiol*, **1986**;250:1-15.

58. <http://en.wikipedia.org/wiki/Estrogen>

59. Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Ankara, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti, **2002**;10.Baskı, 1314-1340.

60. Ellmann S, Sticht H, Thiel F, et al. Estrogen and progesterone receptors: from molecular structures to clinical targets. *Cell Mol Life Sci*, **2009**;66:2405-2426.

61. Fu XD, Simoncini T. Extra-nuclear Signaling of Estrogen Receptors. *IUBMB Life*, **2008**;60:502-510.

62. Kuiper GG, Enmark E, Pelto-Huikko M, Nilsson S, Gustafsson JA. Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc Natl Acad Sci USA*, **1996**;93:59:25-30.

63. Deroo BJ, Korach KS. Estrogen receptors and human disease. *J Clin Invest*, **2006**;116:561-570.

64. Speroff L. A clinical understanding of the estrogen receptor. *Ann N Y Acad Sci*, **2000**;900:26-39.

65. Revankar CM, Cimino DF, Sklar LA, Arterburn JB, Prossnitz ER. A transmembrane intracellular estrogen receptor mediates rapid cell signaling. *Science*, **2005**;11:307:1625-1630.

66. Wang C, Deghani B, Magrisso IJ, Rick EA, Bonhomme E, Cody DB, Elenich LA, Subramanian S, Murphy SJ, Kelly MJ, Rosenbaum JS, Vandembark AA, Offner H. GPR30 contributes to estrogen-induced thymic atrophy. *Mol Endocrinol*, **2008**;22:636-648.

67. Isensee J, Meoli L, Zazzu V, Nabzdyk C, Witt H, Soewarto D, Effertz K, Fuchs H, Gailus-Durner V, Busch D, Adler T, de Angelis MH, Irgang M, Otto C, Noppinger PR. Expression pattern of G protein-coupled receptor 30 in LacZ reporter mice. *Endocrinology*, **2009**;150:1722-1730.

68. Bologna CG, Revankar CM, Young SM, Edwards BS, Arterburn JB, Kiselyov AS, Parker MA, Tkachenko SE, Savchuck NP, Sklar LA, Oprea TI, Prossnitz ER. Virtual and biochemical screening converge on a selective agonist for GPR30. *Nat Chem Biol*, **2006**;2:207-212.

- 69. Dennis MK, Burai R, Ramesh C, Petrie WK, Alcon SN, Nayak TK, Bologna CG, Leitao A, Brailoiu E, Deliu E, Dun NJ, Sklar LA, Hathaway HJ, Arterburn JB, Oprea TI, Prossnitz ER.** In vivo effects of a GPR30 antagonist. *Nat Chem Biol*, **2009**;5:421-427.
- 70. Filardo EJ, Quinn JA, Bland KI, Frackelton AR.** Estrogen-induced activation of Erk-1 and Erk-2 regulates the protein-coupled receptor homolog GPR30, and occurs via trans-activation of the epidermal growth factor receptor through release of HB-EGF. *Mol Endocrinol*, **2000**;14:1649-1660.
- 71. Ding Q, Gros R, Limbird LE, Chorazyczewski J, Feldman RD.** Estradiol-mediated ERK phosphorylation and apoptosis in vascular smooth muscle cells requires GPR 30. *Am J Physiol Cell Physiol*, **2009**;297:1178-1187.
- 72. Mårtensson UE, Salehi SA, Windahl S, Gomez MF, Swärd K, Daszkiewicz-Nilsson J, Wendt A, Andersson N, Hellstrand P, Grände PO, Owman C, Rosen CJ, Adamo ML, Lundquist I, Rorsman P, Nilsson BO, Ohlsson C, Olde B, Leeb-Lundberg LM.** Deletion of the G protein-coupled receptor 30 impairs glucose tolerance, reduces bone growth, increases blood pressure, and eliminates estradiol-stimulated insulin release in female mice. *Endocrinology*, **2009**;150:687-698.
- 73. Patel VH, Chen J, Ramanjaneya M, Karteris E, Zachariades E, Thomas P, Been M, Randeve HS.** G-protein coupled estrogen receptor 1 expression in rat and human heart: Protective role during ischaemic stress. *Int J Mol Med*, **2010**;26:193-199.
- 74. Recchia AG, De Francesco EM, Vivacqua A, Sisci D, Panno ML, Andò S, Maggiolini M.** The G protein-coupled receptor 30 is up-regulated by hypoxia-inducible factor-1alpha (HIF-1alpha) in breast cancer cells and cardiomyocytes. *J Biol Chem*, **2011**;286:10773-10782.
- 75. Delbeck M, Golz S, Vonk R, Janssen W, Hucho T, Isensee J, Schäfer S, Otto C.** Impaired left-ventricular cardiac function in male GPR30-deficient mice. *Mol Med Report*, **2011**;4:37-40.
- 76. Deschamps AM, Murphy E.** Activation of a novel estrogen receptor, GPER, is cardioprotective in male and female rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **2009**;297:1806-1813.
- 77. Weil BR, Manukyan MC, Herrmann JL, Wang Y, Abarbanell AM, Poynter JA, Meldrum DR.** Signaling via GPR30 protects the myocardium from ischemia/reperfusion injury. *Surgery*, **2010**;148:436-443.
- 78. Filice E, Recchia AG, Pellegrino D, Angelone T, Maggiolini M, Cerra MC.** A new membrane G protein-coupled receptor (GPR30) is involved in the cardiac effects of 17beta-estradiol in the male rat. *J Physiol Pharmacol*, **2009**;60:3-10.
- 79. Bopassa JC, Eghbali M, Toro L, Stefani E.** A novel estrogen receptor GPER inhibits mitochondria permeability transition pore opening and protects the heart against ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **2010**;298:16-23.
- 80. Holm A, Baldetorp B, Olde B, Leeb-Lundberg LM, Nilsson BO.** The GPER1 agonist G-1 attenuates endothelial cell proliferation by inhibiting DNA synthesis and accumulating cells in the S and G2 phases of the cell cycle. *J Vasc Res*, **2011**;48:327-335.

- 81. Lindsey SH, Carver KA, Prossnitz ER, Chappell MC.** Vasodilation in response to the GPR30 agonist G-1 is not different from estradiol in the mRen2.Lewis female rat. *J Cardiovasc Pharmacol*, **2011**; 57:598-603.
- 82. Jessup JA, Lindsey SH, Wang H, Chappell MC, Groban L.** Attenuation of salt-induced cardiac remodeling and diastolic dysfunction by the GPER agonist G-1 in female mRen2.Lewis rats. *Plos ONE*, **2011**;5:15433.
- 83. Hazell GG, Yao ST, Roper JA, Prossnitz ER, O'Carroll AM, Lolait SJ.** Localisation of GPR30, a novel G protein-coupled oestrogen receptor, suggests multiple functions in rodent brain and peripheral tissues. *J Endocrinol*, **2009**;202:223-236.
- 84. Sandén C, Broselid S, Cornmark L, Andersson K, Daszkiewicz-Nilsson J, Mårtensson UE, Olde B, Leeb-Lundberg LM.** G protein-coupled estrogen receptor 1/G protein-coupled receptor 30 localizes in the plasma membrane and traffics intracellularly on cytokeratin intermediate filaments. *Mol Pharmacol*, **2011**;79:400-410.
- 85. Gilliam-Davis S, Cohen JA, Lindsey SH, Yamaleyeva L, Chappell MC.** The estrogen receptor GPR30 is renoprotective in diabetic hypertensive female rats. *Hypertension*, **2010**;56:150-166.
- 86. Thompson LP, Weiner CP.** Long-term estradiol replacement decreases contractility of guinea pig coronary arteries to the thromboxane mimetic U46619. *Circulation*, **1997**;95:709-714.
- 87. Mendelsohn ME.** The protective effects of estrogen on cardiovascular system. *N Engl J Med*, **1999**;340:1801-1811.
- 88. Hayashi T, Yamada K, Esaki T, et al.** Estrogen increases endothelial nitric oxide by a receptor-mediated system. *Biochem Biophys Res Commun*, **1995**;214:847-855.
- 89. Otter D, Austin C.** Effect of 17 β -estradiol on rat isolated coronary and mesenteric artery tone; involvement of nitric oxide. *J Pharm Pharmacol*, **1998**;50:531-538.
- 90. Markou A, Duka T, Prelevic GM.** Estrogens and brain function. *Hormones*, **2005**;4:9-17.
- 91. Gee KW.** Steroid modulation of the GABA/benzodiazepine receptor-linked chloride ionophore. *Mol Neurobiol*, **1988**;2:291-317.
- 92. McEwen BS.** Non-genomic and genomic effects of steroids on neural activity. *Trends Pharmacol Sci*, **1991**;12:141-147.
- 93. Vincens M, Shu C, Moguilewsky M, et al.** A progesterone metabolite enhances the activity of the GABAA receptor complex at the pituitary level. *Eur J Pharmacol*, **1989**;168:15-21.
- 94. Watters JJ, Campbell JS, Cunningham MJ, et al.** Rapid membrane effects of steroids in neuroblastoma cells: effects of estrogen on mitogen activated protein kinase signalling cascade and c-fos

immediate early gene transcription. *Endocrinology*, **1997**;138:4030-4033.

- 95. Aloysi A, Van Dyk K, Sano M.** Women's cognitive and affective health and neuropsychiatry. *Mt Sinai J Med*, **2006**;73:967-975.
- 96. Genazzani AR, Stomati M, Monteleone P, et al.** Effect of HRT on cognitive function and mood. *J Menopause*, **2000**;2:9-11.
- 97. Traupe T, Stettler CD, Li H, Haas E, Bhattacharya I, Minotti R, Barton M.** Distinct roles of estrogen receptors alpha and beta mediating acute vasodilation of epicardial coronary arteries. *Hypertension*, **2007**;49:1364-1370.
- 98. Iafrati MD, Karas RH, Aronovitz M, Kim S, Sullivan TR, Jr Lubhan DB, O'Donnell TF, Jr Korach KS, Mendelsohn ME.** Estrogen inhibits the vascular injury response in estrogen receptor β -deficient mice. *Nat Med*, **1997**;3:545-548
- 99. Karas RH, Schulten H, Pare G, Aronovitz MJ, Ohlsson C, Gustafsson JA, Mendelsohn ME.** Effects of estrogen on the vascular injury response in estrogen receptor alpha, beta (double) knockout mice. *Circ Res*, **2001**;14:534-549
- 100. Grandien K, Berkenstam A, Gustafsson JA.** The estrogen receptor gene, promoter organization and expression. *Int J Biochem Cell Biol*, **1997**;29:1343-1369.
- 101. Tsai EM, Wang SC, Lee JN, Hung MC.** Akt activation by estrogen receptor-negative breast cancer cells. *Cancer Res*, **2001**;61:8390-8392.
- 102. Meyer MR, Haas E, Prossnitz ER, Barton M.** Non-genomic regulation of vascular cell function and growth by estrogen. *Mol Cell Endocrinol*, **2009**;24:308:9-16.
- 103. Nilsson BO, Olde B, Leeb-Lundber LM.** G protein-coupled oestrogen receptor 1 (GPER)/GPR30: a new player in cardiovascular and metabolic oestrogenic signalling. *Br J Pharmacol*, **2011**;163:1131-1139.
- 104. Chen Z, Yuhanna IS, Galcheva-Gargova ZI, Karas RH, Mendelsohn ME, Shaul PW.** Estrogen receptor α mediates the nongenomic activation of endothelial nitric oxide synthase by estrogen. *J Clin Invest*, **1999**;103:401.
- 105. Gorodeski GI, Yang T, Levy MN, Goldfarb J, Utian WH.** Effects of estrogen in vivo on coronary vascular resistance in perfused rabbit hearts. *American Journal of Physiology*, **1995**;269:1333-1338.
- 106. Magness RR, Parker CR Jr, Rosenfeld CR.** Systemic and uterine response to chronic infusion of estradiol-17 beta. *Am J Physiol*, **1993**;265:690-698.
- 107. Meyer MR, Haas E, Barton M.** Gender differences of cardiovascular disease: new perspectives

for estrogen receptor signaling. *Hypertension*, **2006**; 47:1019-1026.

108. Bourassa PA, Milos PM, Gaynor BJ, Breslow JL, Aiello RJ. Estrogen reduces atherosclerotic lesion development in apolipoprotein E-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1996**;93:10022-10027.

109. White RE. Estrogen and vascular function. *Vascul Pharmacol*, **2002**;38:73-80.

110. Vacca G, Battaglia A, Grossini E, Mary D, Molinari C, Surico N. The effect of 17 α -oestradiol on regional blood flow in anaesthetized pigs. *Journal of Physiology*, **1999**;514:875-884

111. de Gasparo M, Levens NR. Pharmacology of angiotensin II receptors in the kidney. *Kidney Int*, **1994**;46:1486-1491.

112. Pallone TL, Zhang Z, Rhinehart K. Physiology of the renal medullary microcirculation. *Am J Physiol Renal Physiol*, **2003**;284:253-266.

113. Filardo EJ, Thomas P. GPR30: a seven-transmembrane-spanning estrogen receptor that triggers EGF release. *Trends Endocrinol Meta*, **2005**;16:362-367.

114. Quinn JA, Grabere CT, Frackelton AR, Jr. Kim M, Schwarzbauer JE, Filardo EJ. Coordinate regulation of estrogen-mediated fibronectin matrix assembly and epidermal growth factor receptor transactivation by the G protein-coupledreceptor, GPR30. *Mol Endocrinol*, **2009**;23:1052-1064.

ÖZGEÇMİŞ

A. Hakan Kurt,1975 yılında Berlin-Almanya’da doğdu. İlkokul, ortaokul ve lise öğrenimini Mersin’de tamamladı. 2000 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesinden mezun oldu. 2003-2005 döneminde bir ilaç firmasında çalıştı. 2005 yılı eylül ayında Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı. 2006 yılı haziran ayından itibaren Sağlık Bilimleri Enstitüsünde araştırma görevlisi kadrosunda çalışmaktadır. 2008 yılı şubat ayında Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalında Doktora eğitimine başladı. Evli ve bir çocuk babasıdır.